

Versuche zur Auslösung von Mutationen bei der
zoophagen Cynipide *Pseudeucoila bochei* Weld und
Befunde über die stammspezifische Abwehrreaktion
des Wirtes *Drosophila melanogaster*

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II der Universität
Zürich

von

Eva Schlegel-Oprecht

aus Zürich

Begutachtet von Prof. Dr. E. Hadorn



Sonderabdruck aus
„Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre“
Band 85, Heft 2, Seite 245—281, 1953
(Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg)

Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich.

VERSUCHE ZUR AUSLÖSUNG VON MUTATIONEN
BEI DER ZOOPHAGEN CYNIPIDE *PSEUDEUCOILA BOCHEI* WELD
UND BEFUNDE ÜBER DIE STAMMSPEZIFISCHE ABWEHRREAKTION
DES WIRTES *DROSOPHILA MELANOGASTER*.

Von

EVA SCHLEGEL-OPRECHT.

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Dezember 1952.)

Inhalt.	Seite
I. Einleitung und Problemstellung	246
II. Bestrahlungsversuche zur Auslösung sichtbarer Mutationen	248
1. Material	248
2. Technik	249
3. Experimente	250
A. Bestrahlung von Weibchen	250
a) Unbesamte Weibchen	250
b) Besamte Weibchen	251
c) Entwicklungszustand der Nachkommen von unbestrahlten und bestrahlten <i>Pseudeucoila</i> -Weibchen	252
d) Bestimmung der Kernphase bei voll ausgewachsenen Eiern	254
B. Bestrahlung von Larven und Puppen	256
C. Bestrahlung von Männchen	257
III. Bestrahlungsversuche zur Auslösung dominanter Letalfaktoren	259
1. Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses bei den Nachkommen bestrahlter Männchen	259
2. Absterbedaten bei Eiern, Larven und Puppen in der F ₁ bestrahlter Männchen	263
a) Material und Methode	264
b) Experimente	264
c) Ergebnisse	265
IV. Vergleich der Entwicklungszeiten bei nicht infizierten und infizierten Larven und Puppen von <i>Drosophila</i>	266
1. Experimente	266
2. Ergebnisse	267
V. Die Chromosomenzahl bei <i>Pseudeucoila bochei</i>	268
VI. Die Kapselbildung um <i>Pseudeucoila</i> -Keime als Abwehrreaktion bei Larven und Puppen von <i>Drosophila melanogaster</i>	269
1. Einleitung	269
2. Beschreibung der Reaktion bei Parasit und Wirt	270
3. Problemstellung	273
4. Experimente	273
5. Selektion und Kreuzung	276
Schlußzusammenfassung	279
Literatur	281

I. Einleitung und Problemstellung¹.

Kurz nachdem MULLERS erfolgreiche Experimente zur Auslösung von Mutationen mit Röntgenstrahlen bei *Drosophila melanogaster* bekanntgeworden waren, berichtete WHITING (1928) über entsprechende Versuche an der Braconide *Habrobracon juglandis* ASHMEAD. WHITING erzielte zahlreiche sichtbare Mutationen, vor allem der Augen, Flügel und Extremitäten. Spontan auftretende Mutationen waren schon früher festgestellt worden. *Habrobracon* erwies sich als günstiges Versuchstier, da die Männchen nur einen einfachen Chromosomensatz besitzen und die rezessiven Merkmalsänderungen deshalb sofort festgestellt werden können. Neben Mutationen in der Keimbahn traten auch somatische Mutationen (Mosaiktiere) und Gynander auf. Außer Röntgenstrahlen wurden mit Erfolg auch hohe Temperaturen (A. R. WHITING 1933f, 1934) und Neutronen (P. W. WHITING 1936) zur Mutationsauslösung verwendet. Die relativ hohe Spontanrate wie auch die leichte Ansprechbarkeit auf mutagene Agenzien zeigt, daß offenbar der Erbsubstanz von *Habrobracon* keine übermäßig hohe Stabilität zukommt.

An der Chalcidide *Mormoniella vitripennis*, die parasitisch auf Calliphora-Arten lebt, erhielt RAY (1948) ebenfalls durch Bestrahlung verschiedene Augenfarbenmutanten und dominante Letalfaktoren.

Nach einer persönlichen Mitteilung von WHITING erhielt man bei *Pachycrepoides dubius* ASHMEAD, einem weiteren Parasiten von *Drosophila*, viele Augenfarbenmutanten nach Behandlung mit Röntgenstrahlen.

KERSCHNER (1946) bestrahlte Männchen von *Melittobia* sp., einer Chalcidide. Er konnte auch bei dieser Wespe dominante Letalfaktoren nachweisen. Mit steigender Röntgendosis nahm wie bei *Habrobracon* und *Mormoniella* der Anteil der dominanten Letalfaktoren zu.

Ausgedehnte Strahlungsexperimente mit Röntgenstrahlen und Radium unternahmen SMITH-STOCKING (1936) und METZ (1939) an verschiedenen Arten der Pilzfliege *Sciara*. Entgegen den Erfahrungen bei anderen Insekten zeigten sich beim Versuch, sichtbare Mutationen zu erzeugen, große Schwierigkeiten. Schon die spontane Mutationsrate ist bei *Sciara* sehr niedrig. Die Bestrahlungen bei Adulttieren beider Geschlechter ergaben nur eine sehr geringe Zahl von sichtbaren Mutationen, die zudem nicht alle mit Sicherheit auf die Röntgenstrahlen zurückzuführen waren.

Nach diesen Erfahrungen war nicht vorauszusehen, wie erfolgreich Bestrahlungsversuche an einer weiteren Hymenoptere sich auswirken würden.

¹ Meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. E. HADORN verdanke ich die Anregung zu dieser Arbeit. Für sein stetes Interesse, seine wertvollen Ratschläge und auch für seine Mühe danke ich ihm herzlichst.

Herrn Dr. W. JENNI möchte ich für die Überlassung der Ergebnisse seiner biologischen Untersuchungen und für die Zuchten meinen besten Dank aussprechen.

Verbindlichen Dank auch an Herrn Prof. H. R. SCHINZ, Direktor des Röntgeninstitutes des Kantonsspitals Zürich. Sein Entgegenkommen ermöglichte die Durchführung der Bestrahlungen. Herrn Dr. SCHÄRER vom Röntgeninstitut danke ich herzlich für die Überwachung der zahlreichen Bestrahlungen.

Herrn Prof. P. W. WHITING, Philadelphia, bin ich dankbar für seine Ratschläge und für das in freundlicher Weise übersandte Vergleichsmaterial.

Pseudeucoila bochei WELD ist eine zoophage Cynipide, die auf verschiedenen Arten der Fruchtfliege *Drosophila* parasitiert. Die Wespe wurde erstmals von L. H. WELD (1944) beschrieben und von W. JENNI (1947, 1951) eingehend untersucht.

Die Entwicklung von *Pseudeucoila* verläuft wie folgt: die Wespe legt ihre Eier in lebende, nicht gelähmte Larven des 2. oder 3. Stadiums von *Drosophila*. Stehen zahlreiche Fliegenlarven zur Verfügung, so wird meistens jeder Wirt nur mit einem Ei infiziert. Bei spärlichem Angebot an Larven finden sich in einem Wirt mehrere Parasiteneier. JENNI hat gezeigt, daß auch bei starker „Überinfektion“ stets nur je eine Wespe aus dem *Drosophila*-Puparium schlüpft.

Nach JENNI (1951) durchläuft *Pseudeucoila* 3 Larvenstadien. Der parasitierte Wirt entwickelt sich zunächst scheinbar normal, es gelingt ihm noch, sein Puparium zu bilden. In den meisten Fällen kommt es kurz vor der Ausfärbung der Augen zum Stillstand. Relativ rasch wird dann die Fliegenpuppe vom Parasiten aufgefressen.

Nach einer Entwicklungszeit von 18–23 Tagen schlüpft aus dem *Drosophila*-Puparium die Imago von *Pseudeucoila*.

Die bei Hymenopteren allgemein verbreitete Parthenogenese ist auch bei *Pseudeucoila* nachgewiesen. Aus unbefruchteten Eiern entstehen Männchen; aus den befruchteten entwickeln sich die weiblichen Tiere. Je nach den Zuchtbedingungen ergibt sich ein „normales“ Geschlechtsverhältnis mit 39–63% Männchen.

Bei Überinfektion zeigt das Geschlechtsverhältnis eine interessante Verschiebung (JENNI 1947). Stehen den weiblichen Tieren aus irgendeinem Grunde nur wenige *Drosophila*-Larven zur Eiablage zur Verfügung, so werden die Wirte mit mehreren Eiern infiziert. Die Parasiten beginnen sich zu entwickeln; jedoch gelangt nur ein Keim über das 1. Larvenstadium hinaus und schlüpft später als Imago. Die übrigen sterben sehr früh ab. In überinfizierten *Drosophila*-Larven können sie unbeweglich neben dem lebenden Keim gefunden werden. Die Ursachen dieses Absterbens der Überzähligen scheint auf einem chemischen Einfluß zu beruhen, der von dem einen erfolgreichen Parasiten ausgeht. Die toten Wespenlarven sind nicht verletzt und zur Zeit ihres Absterbens kommen weder Raum- noch Nahrungsmangel in Frage¹.

Ist eine Wirtslarve mit befruchteten und unbefruchteten Eiern belegt, so ist der diploide Keim dem haploiden überlegen. Stets erreicht dann ein Weibchen das imaginale Stadium. Besteht deshalb in einer Wespenzucht eine starke „Überinfektion“, so wird das Geschlechtsverhältnis zugunsten der Weibchen verschoben. JENNI (1951) erhielt auf diese Weise bis zu 100% weibliche Tiere in einer Zucht.

In der vorliegenden Arbeit sollten zunächst vor allem die Ursache der Eliminierung von überzähligen Parasiten bei Überinfektion sowie die gleichzeitig sich ergebende Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses zugunsten der

¹ In einem einzigen Fall fand ich 2 Parasitenlarven im späten ersten Stadium, die anscheinend miteinander kämpften. Der eine der Parasiten verbiß sich so lange mit seinen Mandibeln in der Aftergegend des andern, bis dieser bewegungslos blieb. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß in seltenen Fällen die Ausmerzungen des Rivalen auch durch direkte Bekämpfung erfolgen kann.

biparental entstandenen Weibchen untersucht werden. Die Verwendung von Markierungsgenen konnte dabei zur teilweisen Lösung dieser Probleme nützlich sein. Spontane sichtbare Mutationen wurden bis heute trotz der Kontrolle einer sehr hohen Zahl von Wespen aus Zuchten und aus Wildfängen nicht festgestellt. So konnten nur experimentell induzierte sichtbare Mutationen in Frage kommen. *Pseudeucoila* müßte sich ebenso wie *Habrobracon* für Mutationsversuche eignen, da bei den haploiden Männchen alle sichtbaren Mutationen im Phänotyp zu erfassen sind. Außerdem ermöglicht der Haplo-Diplomechanismus von *Pseudeucoila* zwischen Sterilitätsfaktoren und dominanten Letalfaktoren zu unterscheiden.

Als Agenzien für Mutationsexperimente kamen Temperaturänderungen, Ultraviolett, Infrarot, Chemikalien und ionisierende Strahlen in Frage. Da sich Röntgenstrahlen bei Versuchen vor allem an *Drosophila* und *Habrobracon* sehr bewährt hatten, wurden die Experimente bei *Pseudeucoila* ebenfalls damit durchgeführt.

Bis heute gelang es nicht, bei *Pseudeucoila* solche sichtbare Mutationen zu induzieren, die in Dauerzuchten gehalten werden konnten. In 2 Fällen traten wohl phänotypische Veränderungen auf. Da eine Weiterzucht aber nicht möglich war, konnte der Beweis für das Vorliegen einer sichtbaren Mutation nicht erbracht werden.

Nach diesen Erfahrungen wurde die Arbeit auf weitere Gebiete ausgedehnt. Die Bestrahlungsexperimente wurden zunächst noch weiter durchgeführt, um das eventuelle Auftreten von dominanten Letalfaktoren festzustellen. Die damit verbundene nähere Untersuchung des Geschlechtsverhältnisses führte dann zur Bestimmung der Chromosomenzahl. Später wurde der Wechselbeziehung zwischen Wirt und Parasit Beachtung geschenkt. Verschiedene Wildstämme von *Drosophila melanogaster* weisen eine Abwehrreaktion gegen die Infektion mit *Pseudeucoila*-Eiern auf. Die Fliegenlarve bildet um den Parasiten eine dunkel pigmentierte Kapsel, aus der er sich in vielen Fällen nicht mehr befreien kann. Die wechselnde Stärke dieser Abwehr erwies sich als stammespezifisch. Durch Selektion und anschließende Kreuzung gelang es zu zeigen, daß die Fähigkeit der Kapselbildung in verschiedenen Wildstämmen von *Drosophila melanogaster* genetisch festgelegt ist.

II. Bestrahlungsversuche zur Auslösung sichtbarer Mutationen.

1. Material.

Für die hier beschriebenen Experimente wurden Wespen aus Wildfängen vom Sommer 1951 und Tiere aus Zuchten, die seit einigen Jahren im Laboratorium gehalten worden waren, verwendet. Die Wespen wurden aus heterogen zusammengesetzten Kulturen entnommen, da die Vitalität von *Pseudeucoila* in rein gezüchteten Stämmen stark herabgesetzt sein kann.

Bestrahlt wurden:

a) Weibchen jeden Alters, meistens jedoch ganz junge Imagines. Das Ovar des frisch geschlüpften weiblichen Tieres enthält zum größten Teil nur reife Eier. Im Gegensatz zu *Habrobracon* ist die Oogenese beim Ausschlüpfen fast vollständig abgeschlossen. Ein ähnliches Verhalten wurde von FRÜHAUF (1924) an einer Eichengallwespe (*Biorhiza aptera* Bosc.) und von METZ (1939) bei der Pilzfliege *Sciara* beobachtet.

Durch die Bestrahlung können bei unbesamten Wespen allein in den Eiern Mutationen entstehen, bei den begatteten Tieren sind Mutationen im Erbgut von Eiern und Spermien möglich. Bei den vorliegenden Experimenten kamen zum Teil unbefruchtete und zum Teil begattete Weibchen zur Verwendung. Die Wespe beginnt nach JENNI (1951) sofort nach dem Verlassen des *Drosophila*-Puparium mit der Eiablage.

b) Larven und Puppen in verschiedenen Stadien, innerhalb des *Drosophila*-Puparium liegend. Die Wespenlarven können im späten 2. Stadium, also ungefähr 140 Std nach der Infektion, von außen festgestellt werden. Es bietet deshalb Schwierigkeit, frühere Stadien mit Erfolg zu bestrahlen. Das Geschlecht des Parasiten kann erst bei der Puppe durch das Fliegenpuparium hindurch bestimmt werden. Kurz vor dem Ausfärben des Körperpigmentes lassen sich die langen Antennen der Männchen von den kurzen der Weibchen innerhalb des Wirtspuparium unterscheiden.

c) Männchen, meistens ganz junge Tiere. Eine Kopulation kann sofort nach dem Schlüpfen stattfinden. Die bestrahlten Männchen wurden mit unbegatteten Weibchen gepaart, entweder nur mit einem weiblichen Tier oder auch mit verschiedenen Weibchen an aufeinander folgenden Tagen.

Der Nachweis von rezessiven Mutationen im Erbgut eines Spermiums kann erst bei den Großsöhnen des betroffenen Männchens erbracht werden. Töchter, deren väterlicher Chromosomenanteil eine oder mehrere Mutationen besitzt, bringen zur Hälfte Söhne hervor, die das neue Merkmal sichtbar tragen.

2. Technik.

Für die Versuche kamen 2 Röntgenabstrahlungsapparate zur Verwendung. Diese können innerhalb einer relativ kurzen Zeitspanne hohe Strahlendosen erzeugen. Je nach Dosis und Apparat wurden verschiedene Aluminiumfilter von 1,0—2,5 mm benützt. Der Abstand zwischen dem Fokus und den Versuchstieren betrug 2,2—4,2 cm. Die Bestrahlungsdauer variierte je nach Versuchsanordnung. Die Dosishöhe des ersten der benutzten Apparate schwankte um ungefähr $\pm 50\%$, eine physikalische Messung der Streuung konnte nicht durchgeführt werden. Beim zweiten der verwendeten Apparate wurde die Streuung der Dosis bestimmt, sie beträgt für unsere Versuchsanordnung $\pm 20\%$.

Die Bestrahlungen wurden in folgender Weise durchgeführt: auf einem Objektträger war ein Glasring von 1—2 mm Höhe mit einem Ringdurchmesser von 1,5 cm befestigt. Kurz vor dem Bestrahlen legte ich die leicht mit Äther narkotisierten Tiere in den Ring und schloß diesen dicht mit einem dünnen Cellophanpapier ab. Die Röntgenröhre konnte direkt auf das Cellophan gesetzt werden. Der Abstand zwischen dem äußeren Ende der Röhre und den Wespen wurde damit so klein, daß der Fokusabstand der Röhre zur Berechnung der Dosis eingesetzt werden konnte.

Nach der Behandlung wurden die Tiere entweder sofort mit *Drosophila*-Larven weitergezüchtet oder ohne Wirte gepaart und erst nach 24 Std zur Zucht angesetzt. Die bestrahlten Puppen konnten zur Weiterentwicklung auf feuchtem Fließpapier aufbewahrt werden. Alle Zuchten wurden im Thermostaten bei 23° C aufgezogen. Bei den ersten Versuchen erhielten die einzelnen Wespenweibchen für die Eiablage je Tag 150 *Drosophila*-Larven zur Verfügung. Eine „Überinfektion“ war damit vermieden. Später wurde die Zucht vereinfacht. In jede Flasche setzte man 5 Fliegenpaare auf *Drosophila*-Futter so lange zur Eiablage, bis die ersten Nachkommen das 2. Larvenstadium erreicht hatten. Dann wurden die Fliegen entfernt und die Wespen einzeln zur Infektion angesetzt. Auf diese Weise standen den Parasiten während ihrer Legetätigkeit ebenfalls so viele Wirte zur Verfügung, daß eine normale Eiablage gewährleistet war und keine Überinfektion auftrat.

Bei den Experimenten wurden insgesamt 2775 Tiere bestrahlt und ihre Nachkommen auf sichtbare Mutationen hin geprüft. Die Höhe der angewendeten Röntgendosen betrug 500—6000 r.

3. Experimente.

A. Bestrahlung von Weibchen.

a) Unbesamte Weibchen.

Tabelle 1. *Bestrahlung von unbefruchteten Weibchen mit verschiedenen hohen Röntgendosen.*

Versuchs-Nr.	Dosis r	Streuung in %	Bestrahlte ♀♀		Paarung nach Be- strahlung	Fertile ♀♀	Nachkommenzahl				Phänotyp der F ₁ und F ₂
			Zahl	Alter			F ₁		F ₂		
							♂	♀	♂	♀	
3	500	± 50	12	frisch geschl.	+	1	—	2	—	—	wild
4	750	± 50	10	desgl.	+	1	18	36	18	19	wild
2, 5, 6	1000	± 50	43	„	+	0	—	—	—	—	
37a	1000	± 20	10	2—3 Tage	—	1	1	—	—	—	wild
1	2000	± 50	10	frisch geschl.	+	1	—	2	—	—	wild
37a	2000	± 20	10	2—3 Tage	—	0	—	—	—	—	
14	2500	± 50	17	2—3 Tage	+	0	—	—	—	—	
17	3000	± 50	57	2—3 Tage	—	2	10	—	—	—	wild
40, 37a	3600	± 20	317	2—3 Tage	—	0	—	—	—	—	
	bis 6000										

In 7 von 13 Versuchen fand nach der Behandlung eine Paarung mit unbestrahlten Männchen statt (+). Bei 6 Experimenten blieben die bestrahlten Weibchen unbesamt (—). Frisch geschl. = frisch geschlüpfte Tiere.

Die Tabelle 1 gibt die Zahl der bestrahlten unbefruchteten weiblichen Wespen mit ihren Nachkommen an, geordnet nach Dosis und Experiment. Nach der Behandlung wurden die Weibchen zum Teil mit unbestrahlten Männchen gepaart, zum Teil unbegattet angesetzt. Eine Wespe erzeugt im Durchschnitt gegen 200 Nachkommen. Diese Zahl schwankt je nach den Zuchtbedingungen. Alle Söhne und Töchter der bestrahlten Tiere wurden auf phänotypische Veränderungen hin untersucht. Da bei den weiblichen Nachkommen rezessive Mutationen nur homozygot erfaßt werden, kontrollierte ich auch die F₂-Söhne der behandelten Wespen. Nur 6 von den 486 bestrahlten Weibchen lieferten adulte Nachkommen. Diese wiesen alle einen mit der Wildform übereinstimmenden Phänotypus auf. Bis zu einer Strahlendosis von 3000 r entwickelten sich aus den abgelegten Eiern von bestrahlten Weibchen noch Adulttiere. Schon von 1000 r an scheint aber die Anzahl der Nachkommen stark herabgesetzt zu sein. Die große Schwankung in der Dosis bei den verwendeten Apparaten läßt jedoch keine sicheren Schlüsse zu. Da beim Schlüpfen der Tiere die Oogenese fast abgeschlossen ist, beeinflußt das Alter der Imagines die Empfindlichkeit des Kernmaterials auf die Bestrahlung wohl kaum.

Gleichzeitig mit jedem Versuch waren Kontrollzuchten angelegt worden. Die Nachkommenzahl der unbehandelten Wespen wies keine Abweichung vom normalen Durchschnitt auf.

b) Besamte Weibchen.

Tabelle 2. *Bestrahlung von befruchteten Weibchen.*

Experiment-Nr.	Dosis r	S %	Bestrahlte ♀ ♀		Nachkommenzahl				Phänotypus der F ₁
			Zahl	davon fertil	F ₁		F ₂		
					♂	♀	♂	♀	
8	2000	± 50	12	0	—	—			4 ♂♂ wild, 21 ♀♀ wild, 1 ♀ verkürzte Antennen
13	2500	± 50	28	2	4	22	?	—	
10, 11, 15, 16, 41	3000 bis 3600	± 50 und ± 20	390	0	—	—			

Unter den normalen Nachkommen befinden sich ein Weibchen mit veränderten Antennen (Abb. 1). S = Streuung in %.

Die Zahlen der bestrahlten, begatteten weiblichen Tiere und ihrer Nachkommen wurden ebenfalls tabellarisch (Tabelle 2) nach Dosis und Versuchsreihe zusammengestellt. Bei den verwendeten Wespen hatte eine Kopulation sofort nach dem Schlüpfen stattgefunden. Nach der Behandlung wurden die Tiere einzeln nach der oben erwähnten Art weiter gezogen. Alle Weibchen waren bei der Bestrahlung 2—3 Tage alt. Von den 430 bestrahlten Tieren lieferten einzig 2 Weibchen aus Experiment 13 adulte Nachkommen. Unter den Töchtern der einen der behandelten Wespen befand sich ein

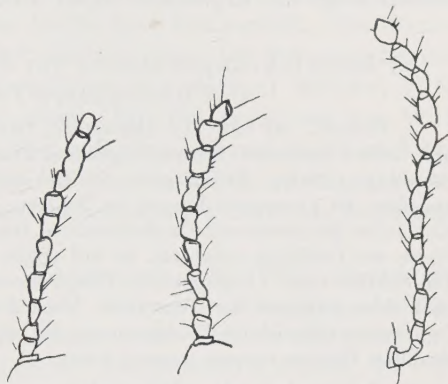


Abb. 1. Links 2 verkürzte und veränderte Antennen (li. und re.) einer weiblichen Wespe, Tochter eines mit 2500 r behandelten Weibchens. Die Paarung hatte vor der Bestrahlung stattgefunden. Außer den Antennen ist das Tier normal. Rechts zum Vergleich eine normale Antenne. Vergr. etwa 185mal.

Tier mit beidseitig verkürzten Antennen mit je 9 verbreiterten Gliedern (Abb. 1). Die Antennenform erinnert an die Mutante „coalescent“ bei *Habrobracon* (MARTIN 1947). Da es nicht gelang, von diesem Weibchen Nachkommen zu erhalten, kann über diese Veränderung nicht ausgesagt werden, ob es sich um eine dominante Mutation oder eine nicht erbliche Mißbildung handelt. Die übrigen Nachkommen aus dem Versuch 13 zeigten keine Veränderungen. Alle Männchen wiesen die Wildform auf, die Weibchen erhielten normale Söhne als Nachkommen. Unter den Kontrollen war die normale Fertilität nicht herabgesetzt. JENNI (1951) beschreibt eine Form mit unregelmäßig verkrümmten Fühlern, deren Segmentzahl nicht genau angegeben werden konnte. Dieses Merkmal trat in den späteren Generationen nicht mehr auf.

Bei den hier zusammengefaßten Strahlungsexperimenten mit besamten und unbesamten Weibchen fällt vor allem die geringe Zahl der Tiere auf, die überhaupt eine adulte Nachkommenschaft lieferten. Dieser schwachen Fertilität können verschiedene Ursachen zugrunde liegen. In der Hälfte der Versuche aus a) kopulierten die bestrahlten, unbesamten Weibchen nach der Behandlung mit

unbestrahlten Männchen. Ein Fehlen der adulten Nachkommen könnte daher auf dominante Letalfaktoren hinweisen, oder es müßte sich um eine Schädigung der Eizelle schon vor der Befruchtung handeln. Bestrahlte Eier von unbesamt gebliebenen Weibchen aus der 2. Hälfte dieser Experimente könnten außerdem noch durch rezessive Letalfaktoren in ihrer Entwicklung gehemmt worden sein.

Bei den befruchteten Weibchen (Versuche aus b) werden Eier und Spermien von der Wirkung der Röntgenstrahlen betroffen. Auch hier ist mit dominanten Letalfaktoren oder aber mit einer Schädigung von Ei- bzw. Spermazelle zu rechnen.

Die Kontrolle der von bestrahlten Weibchen abgelegten Keime während ihrer Entwicklung zur Imago und die Bestimmung der Kernphase in reifen Eiern von *Pseudeucoila* konnten eventuell Aufschluß geben über das häufige Fehlen von Nachkommen bei bestrahlten weiblichen Tieren. Der folgende Abschnitt zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchungen.

c) Entwicklungszustand der Nachkommen von unbestrahlten und bestrahlten *Pseudeucoila*-Weibchen.

1. *Technik.* 20 bzw. 17 unbesamte, frisch geschlüpfte Weibchen wurden mit 1000 r bzw. 3000 r bestrahlt (Bestrahlungsdauer 2 min, 2 sec bzw. 6 min, 42 sec, Al-Filter 0,15 mm, Streuung $\pm 20\%$). 20 Std nach der Behandlung übertrug man die Wespen einzeln zu je ungefähr 40 *Drosophila*-Larven in Schalen mit Standardfutter. Gleichzeitig wurden als Kontrollen 20 unbestrahlte, unbefruchtete, frisch geschlüpfte Weibchen einzeln auf die gleiche Weise zur Infektion angesetzt. 48 Std später entfernte man alle Wespen aus den Schalen. Die Sektion einer 1. Gruppe von Fliegenlarven aus der Hälfte der Schalen erfolgte 72 Std nach dem Ansetzen der Parasiten. Nach 3 weiteren Tagen wurde die 2. Gruppe seziiert. Insgesamt prüfte ich die Nachkommen, die während 2 Tagen von 20 unbestrahlten und 40 bestrahlten Wespen erzeugt worden waren.

2. *Sektionsbefunde.* Die Sektionen ergaben die in Tabelle 3 dargestellten Verhältnisse.

Tabelle 3. *Entwicklungszustand und Anzahl der Nachkommen unbestrahlter und bestrahlter, unbefruchteter Weibchen.*

Dosis r	1. Sektion Parasiten-Zahl					2. Sektion Parasiten-Zahl					
	gesamt	Ei	Kapsel mit Ei	1. Sta- dium Larve	Kapsel mit Larve	gesamt	Ei	Kapsel mit Ei	1. Sta- dium Larve	2. Sta- dium Larve	3. Sta- dium Larve
0	127	—	—	93 73%	34 27%	130			2 2%	50 38%	78 60%
1000	122	79 65%	13 11%	30 24%	—	44	26 59%	7 16%	4 9%	7 16%	—
3000	89	61 69%	27 30%	1 1%	—	126	104 83%	21 17%	—	—	—

Infektionsdauer 48 Std. Die 1. Sektion erfolgte 72—96 Std, die 2. 144—168 Std nach Zugabe der Parasiten zu den Wirtslarven.

3. *Ergebnisse.* Die Nachkommen der unbehandelten Parasiten entwickelten sich normal nach den Zeitangaben von JENNI (1951). 72 Std nach Beginn der Eiablage befanden sich alle Tiere im 1. Larvenstadium (Tabelle 3). Eier wurden in keinem Fall mehr vorgefunden. Die vom Wirt gebildeten Kapseln enthielten nur unbewegliche Parasitenlarven im 1. Stadium. Die Entstehung dieser Kapseln

wird auf S. 269 beschrieben. Nach 3 weiteren Tagen hatten sich 60% der Tiere bis zum 3. Larvenstadium entwickelt. 38% befanden sich im 2. Larvenstadium. Von 130 Parasiten waren nur noch 2 (2%) im 1. Larvenstadium. Abgestorbene oder eingekapselte Wespenlarven wurden bei der 2. Sektion nicht festgestellt.

Bei den Nachkommen der mit 1000 r behandelten Weibchen traten starke Störungen in der Embryonalentwicklung auf. 76 Std nach Beginn der Eiablage hatten nur 24% der Parasiten das 1. Larvenstadium erreicht. 65% der Eier blieben in ihrer Entwicklung stehen. 11% der Tiere wurden als Eier oder als Larven vom Wirt eingekapselt. Von 79 aus *Drosophila*-Puppen heraussezierten Eiern wurden 53 mit Orcein gefärbt und mikroskopisch untersucht. Bei einem Drittel der Eier konnte der Beginn einer Embryonalentwicklung festgestellt werden. In allen Fällen schienen die Kerne pyknotisch und stark vakuolisiert. Chromosomen waren zum Teil sichtbar, doch ließ sich ihre Zahl oder Anordnung nicht genau feststellen. Bei den übrigen Eiern hatte nach der Eiablage keine Kernteilung eingesetzt. Der stark gefärbte Dotter blieb fein verteilt. Ein Eikern konnte nirgends beobachtet werden. Die 2. Sektion (144—168 Std nach Beginn der Eiablage) ergab ungefähr dieselben Verhältnisse wie bei der 1. Sektion. 75% der abgelegten Eier hatten sich nicht entwickelt. Ein Teil davon war vom Wirt eingekapselt worden. Die abgestorbenen Eier befanden sich zwischen dem Fettkörper von Wirtspuppen oder von Imagines. 9% der Parasiten erreichten das 1., 16% das 2. Larvenstadium. Abgestorbene Larven konnten nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

Trotz der verhältnismäßig niedrigen Röntgendosis von 1000 r scheint die Bestrahlung von reifen Eiern eine so schwere, allgemeine Schädigung hervorzurufen, daß nach der Eiablage in vielen Fällen keine Entwicklung mehr einsetzen kann. Neben dieser Schädigung könnten Letalfaktoren auftreten, die entweder in die Embryonalentwicklung eingreifen oder während der Larvenstadien wirksam werden. Eine Unterscheidung zwischen dominanten und rezessiven Letalfaktoren kann hier nicht getroffen werden, da für die Versuche unbefruchtete Weibchen verwendet wurden. Bei den Bestrahlungsexperimenten mit besamten Weibchen (S. 251) erzeugten nur 2 von insgesamt 430 Tieren adulte Töchter. Unter den 92 unbefruchteten bestrahlten Weibchen der Mutationsexperimente mit Paarung nach der Behandlung befanden sich nur 3 Wespen mit adulten Töchtern (Tabelle 1, S. 250). Rezessive Letalfaktoren kamen in diesem Fall bei den diploiden Nachkommen nicht zur Wirkung.

Nach der Bestrahlung von 17 unbefruchteten Weibchen mit 3000 r entwickelte sich aus 215 Eiern nur ein Tier bis zum 1. Larvenstadium. Bei den übrigen Parasiten hatte nach der Eiablage keine Zellteilung eingesetzt. Bei der 2. Sektion (168 Std nach Beginn der Eiablage) wurden nur abgestorbene Parasiteneier in den Wirten festgestellt. Die mikroskopische Untersuchung ergab das fast vollständige Fehlen einer Embryonalentwicklung. Nur 2 Eier enthielten stark vakuolisierte, pyknotische Kerne. Bei den unentwickelten Eiern waren keine Zellkerne zu erkennen. Wie bei den unbehandelten Parasiten werden von den Wirten auch Kapseln um die Eier von bestrahlten Eltern gebildet. Doch findet man hier innerhalb der Kapsel lediglich sterbende Eistadien, während sonst der eingekapselte Parasit sich bis zum 1. Larvenstadium entwickelt. Eine Bestrahlung adulter Weibchen mit 3000 r scheint eine so schwere Schädigung von Eikern

bzw. Plasma hervorzurufen, daß bei den abgelegten Eiern nur in sehr wenigen Fällen eine Embryonalentwicklung überhaupt einsetzen kann. Abb. 2 gibt eine Zusammenstellung des prozentualen Anteils einzelner Entwicklungsstadien unter den Nachkommen unbestrahlter und bestrahlter Parasiten. Die Röntgenbehandlung scheint die Sterilisation eines großen Teils der Eier hervorzurufen, die bei 3000 r 100% erreichen kann.

Nach den Ergebnissen aus Strahlungsexperimenten an weiblichen Tieren von *Drosophila* und *Habrobracon* war nach der Behandlung ein geringer Ausfall an Eiern zu erwarten. Bei *Pseudeucoila* ließ das fast vollständige Fehlen von Nachkommen besondere Verhältnisse in der Kernphase von reifen Eiern oder in der Oogenese vermuten.

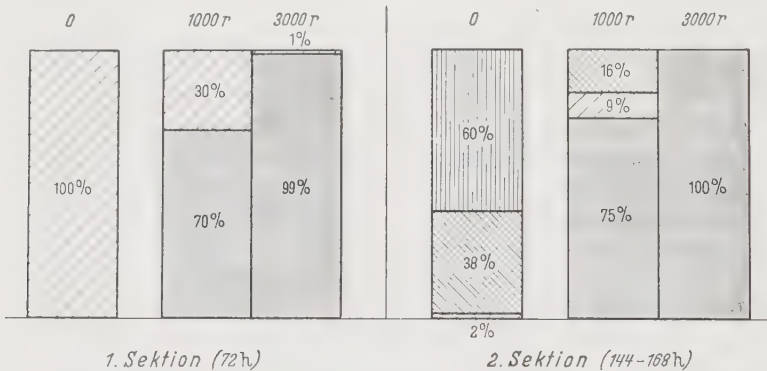


Abb. 2. Prozentualer Anteil einzelner Entwicklungsstadien bei Nachkommen von bestrahlten und unbestrahlten Weibchen, 72 Std und 144—168 Std nach Beginn der Eiablage. Dosis: 0, 1000 und 3000 r. Die eingekapselten Tiere wurden je nach ihrem Entwicklungszustand zum entsprechenden Stadium gezählt.

Parasitenei, 1. Larvenstadium, 2. Larvenstadium, 3. Larvenstadium.

d) Bestimmung der Kernphase bei voll ausgewachsenen Eiern aus Ovarien frisch geschlüpfter Weibchen.

Wie schon auf S. 248 dieses Kapitels erwähnt wurde, ist die Oogenese beim Schlüpfen der weiblichen Imago fast abgeschlossen. Nach JENNI (1951) erzeugt ein Weibchen im Durchschnitt gegen 200 Nachkommen. An Totalpräparaten von Ovarien aus frisch geschlüpften Tieren wurden durchschnittlich 160—240 voll ausgewachsene Eier ausgezählt. Nur ungefähr $\frac{1}{8}$ aller Keimzellen befand sich bei ganz jungen Imagines noch in einem früheren Stadium der Oogenese. Zwei bis drei Tage nach dem Schlüpfen waren nur noch reife Eier festzustellen.

Die Abb. 3a stellt einen Eischlauch mit einem teilweise abgetrennten Follikel (Fol) aus dem Eierstock eines frisch geschlüpften Weibchens dar. Die Hüllen der Ovariole sind nicht eingezeichnet. Im Eischlauch findet man zahlreiche Nährzellen (N) und einige unreife Keimzellen. Wahrscheinlich handelt es sich um Oocyten 1. Ordnung (O_1). Diese Zellen sind groß und haben zum Teil ein deutlich sichtbares Keimbläschen (Kb). Ein Follikel (Fol) ist fast vollständig vom Eischlauch abgeschnürt. Er enthält eine Oocyte 1. Ordnung (O_{1a}) mit einem deutlich sichtbaren Kernraum. Chromosomen können nicht festgestellt werden. Die Dottermasse (D) ist hier sehr groß. Um die Oocyte liegen Follikelzellen (F). Eine noch größere Keimzelle ist völlig vom Eischlauch abgetrennt (Abb. 3b). Diese Oocyte (O_{1b}) besitzt einen großen Kernraum (K) mit deutlich sichtbaren Chromosomen (Chr), die sich in der späten Prophase der ersten Reifeteilung befinden müssen. Die Chromosomen sind in Abb. 3c

vergrößert herausgezeichnet, ihre Zahl soll später diskutiert werden (S. 268). Das voll ausgewachsene, noch nicht abgelegte und unbefruchtete Ei (Abb. 4a) ist gut erkennbar am Eistiel (*S*) und an der doppelten Eihülle (*H*). Der Kern (*Kr*) befindet sich wahrscheinlich in der frühen Metaphase der ersten Reifeteilung. In Abb. 4b ist der Kern eines vollausgewachsenen Eies dargestellt. Die Chromosomen (*Chr*) sind im Präparat dicht zusammen-

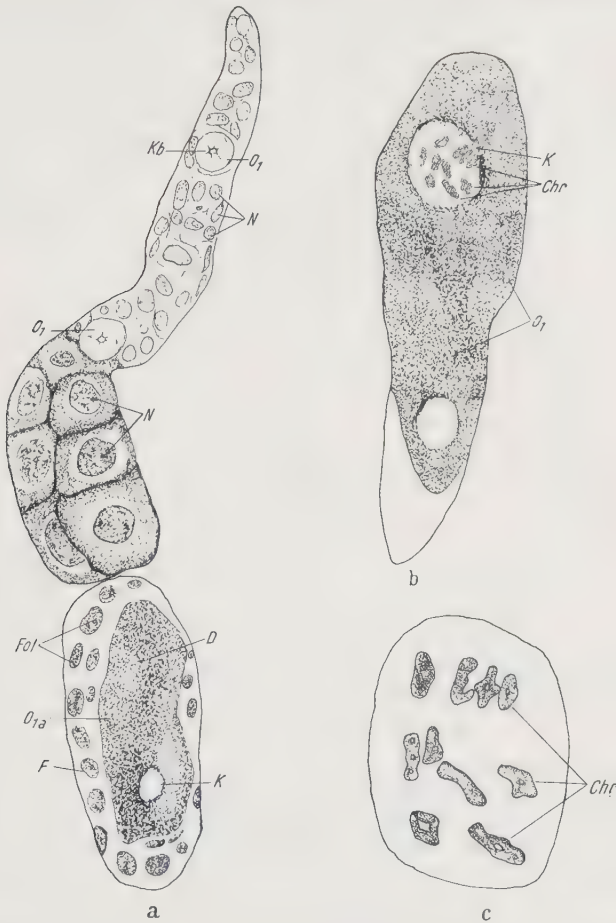


Abb. 3a—c. a Eischlauch aus dem Ovar eines frisch geschlüpften Weibchens. Die Hüllen der Ovariole sind nicht eingezeichnet. *O*₁ und *O*_{1a} = Oocyte 1. Ordnung, *Kb* Keimbläschen, *N* Nährzellen, *Fol* Follikel, *K* Kernraum, *D* Dotter, *F* Follikelzellen. Vergr. 265mal. b *O*₁ Oocyte 1. Ordnung, *K* Kernraum, *Chr* Chromosomen in der Prophase der RT₁. c Dieselben Chromosomen wie in b vergrößert. Vergr. 530mal. Orcein- und Methylenblau-Quetschpräparate. Zeichenapparat.

geballt, die Chiasmata (*Chi*) endständig. Der Kernraum ist immer noch vorhanden. Vermutlich tritt bis zur Eiablage ein Stillstand im Ablauf der Meiose ein.

Zusammenfassend ergibt sich folgendes. Bei einem frisch geschlüpften Weibchen enthalten die Ovarien zum größten Teil voll ausgewachsene Eier, deren Kerne sich wahrscheinlich in später Prophase oder in früher Metaphase der 1. Reifeteilung befinden. Ungefähr 2 Tage nach dem Schlüpfen haben alle Keimzellen diesen Reifezustand erreicht. Untersucht man die Eierstöcke von *Pseudoeucoila*-Puppen, deren Körperpigment eben ausgefärbt ist, so findet man ebenfalls zahlreiche ausgewachsene Eier und nur wenige frühere Stadien. Die Ausbildung

zur Oocyte 1. Ordnung beginnt wahrscheinlich schon in einem frühen Zeitpunkt der Entwicklung zur Imago.

Nach LEA (1947) kann eine Bestrahlung 2 verschiedene Effekte im Zellkern hervorrufen. Die erste Wirkung geschieht direkt durch den ionisierenden Treffer; es entstehen Chromosomenbrüche und Rearrangements. Die Bestrahlung kann jedoch auch physiologische Effekte, d. h. Änderungen in den Oberflächeneigenschaften der Chromosomenmatrix verursachen, die zum Zusammenballen des Chromatins führen können. Dies geschieht vor allem bei Meiose-Chromosomen in der Metaphasenpaarung und bei Schwesterchromatiden. In schweren Fällen kann die Verklumpung der Metaphasenchromosomen nicht mehr gelöst werden, so daß die Kernteilung zum Stillstand kommt. Das Zusammenballen der Schwesterchromatiden kann eine vollständige Trennung verhindern; in der Anaphase können Brücken und später

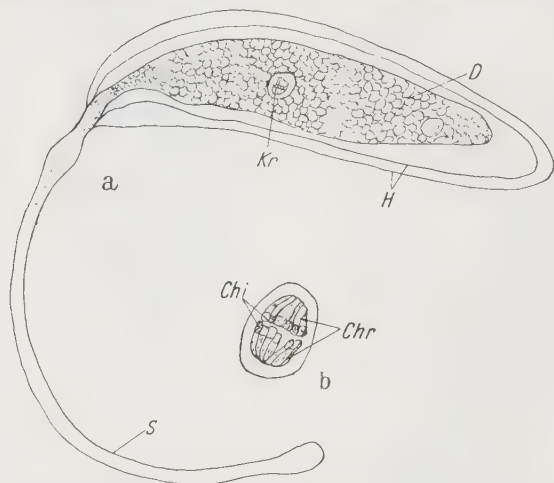


Abb. 4a u. b. a Voll ausgewachsenes Ei aus dem Ovar eines frisch geschlüpften Weibchens, wahrscheinlich in der Metaphase der RT₁. Vergr. 120mal. b Kern eines ausgewachsenen Eies. Vergr. etwa 600mal. Kr Eikern, D Dotter, H Eihüllen, S Eistiel, Chr Chromosomen, Chi Chiasmata? Orcein-Quetschpräparat, Zeichenapparat.

Brüche entstehen, die zu unbalancierten Chromosomensätzen führen. Physiologische Effekte, die durch die Bestrahlung von Zellen in der Reifeteilung entstehen, führen wahrscheinlich häufig zu einer letalen Wirkung. Zellkerne, die sich während der Behandlung noch nicht in der Reifeteilung befinden, können sich vom physiologischen Effekt erholen und eventuell verspätet die Meiose beginnen. Die Chromosomen dieser Kerne weisen vielleicht Brüche und Rearrangements auf, der physiologische Effekt aber ist hier reversibel.

Möglicherweise ist das Absterben der reifen Eier von *Pseudeucoila* nach einer Bestrahlung zum Teil auf diesen physiologischen Effekt zurückzuführen. Eine genaue cytologische Untersuchung würde wahrscheinlich die Klärung dieser Verhältnisse ergeben. Da bei *Pseudeucoila*-Weibchen nach einer Bestrahlung die Möglichkeit eines Nachschubes von entwicklungsfähigen Eiern fast vollständig fehlt, scheint die Behandlung reifer Weibchen zur Auslösung von Mutationen nicht aussichtsreich.

B. Bestrahlung von Larven und Puppen.

Nach dem Bestrahlen von adulten Weibchen ist die Zahl ihrer Nachkommen häufig stark herabgesetzt. Der Grund für diese Erscheinung wurde eben diskutiert. Es stellte sich nun die Frage, ob das Bestrahlen von Larven und Puppen beider Geschlechter nicht eher zur Erzeugung von sichtbaren Mutationen führen könnte.

Die Tabelle 4 gibt eine Zusammenstellung der Experimente mit bestrahlten Larven und Puppen. Im Laufe der Arbeit zeigte es sich, daß auch diese Versuche ohne Erfolg blieben. Unter den Nachkommen der bestrahlten Larven und Puppen traten keine sichtbaren Abweichungen vom Wildtyp auf. Außerdem ergaben sich Schwierigkeiten in der Zucht. Behandelte Larven (1. und 3. Stadium) verpuppen sich häufig nicht oder sterben kurz vor dem Schlüpfen. Gewöhnlich liegen die Parasiten mit dem Kopf gegen das Vorderende des Fliegenpuparium gerichtet. Durch Abschirmen der vorderen $\frac{2}{3}$ des *Drosophila*-Puparium mit Blei während der Bestrahlung (Schonung der Gehirnganglienregion des Parasiten) gelang es, aus den bestrahlten Larven einige Adulttiere zu erhalten. Die Nachkommen dieser Larven zeigten, wie schon erwähnt, keine Abweichung vom Wildtyp. Auch bestrahlte Puppen sind häufig im Schlüpfen behindert oder sterben noch im Puparium. In jedem Versuch schlüpfen jedoch einige Tiere.

Tabelle 4. *Bestrahlung von Larven und Puppen.*

Nr.	Dosis r	Streu- ung in %	Puppen		Larven		Geschlüpf- te Tiere ♂♂	F ₁ von		F ₂ ♂♂	Phäno- typus		
			Zahl	Alter	Zahl	Alter		be- strahl- ten ♂♂	bestrahl- ten ♀				
12	1500	± 50	10	A	—	—	1	3	—	—			
25—30	3000	± 50	—	—	430	I, III	4	6	8	7	135	—	wild
23—24	4000	± 50	417	K, A	—	—	6	15	—	—	—	—	
20—21	5000	± 50	302	S, A	—	—	30	61	102	21 20	31 78	—	wild

Alter der Puppen: A = Bildung des Augenpigmentes, 286 Std alt, K = Bildung des Körperpigmentes, 330 Std alt, S = kurz vor dem Schlüpfen. Alter der Larven: I = erstes Larvenstadium, III = drittes Larvenstadium. Bei den Nachkommen der bestrahlten Männchen, die mit unbehandelten Weibchen gepaart worden waren, wurde nur die Zahl der Töchter angegeben.

Bei 5 Versuchen mit bestrahlten Puppen erhielt ich in 4 Fällen adulte Weibchen. Nur in einem Experiment erzeugten diese Weibchen Nachkommen. Männliche bestrahlte Puppen erhielten in 2 Fällen Töchter als Nachkommen, in der F₂ traten nur Tiere vom Wildtyp auf. Die Weibchen der F₂ wurden nicht weiter gezüchtet.

C. *Bestrahlung von Männchen.*

Die Tabelle 5 gibt eine Zusammenstellung der einzelnen Versuche.

Paart man bestrahlte Männchen mit unbehandelten, unbesamten Weibchen, so werden die parthenogenetisch entstandenen Söhne keine von der Bestrahlung ausgelöste Mutationen aufweisen. Aus diesem Grund wurden in den vorliegenden Experimenten nur die Töchter aus der F₁ von bestrahlten Männchen und unbehandelten Weibchen weiter gezüchtet.

Bei den Serien Nr. 42 und Nr. 19 war es nicht möglich, alle Nachkommen der Weibchen aus der F₁ zu kontrollieren. Die Söhne der geprüften Weibchen aus diesen Serien wichen nicht von der Wildform ab. Auch in den meisten übrigen Serien traten bei den Nachkommen der bestrahlten Männchen in der F₂ keine veränderten Formen auf.

Tabelle 5. *Bestrahlung von adulten Männchen.*

Nr.	Dosis r	Streuung ‰	Zahl der bestrahlten ♂♂	Nachkommen- zahl F ₁		Nachkommen- zahl F ₂		Phänotypus der F ₂
				♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	
39	500	± 20	20	134	4	?	—	wild
7	750	± 50	10	?	8	0	—	
39	1000	± 20	20	94	12	38	3	wild
9	1500	± 50	7	?	9	72	125	wild
39	2000	± 20	41	170	29	264	—	wild
32, 34	2000	± 50	60	1004	51	115	?	zum Teil verändert, s. Text
42	3000	± 20	186	?	106	?	?	
39	4000	± 20	18	97	38	95	—	zum Teil verändert, s. Text
18	4000	± 50	73	194	42	233	33	wild
19	4000	± 50	50	? 524	623	?	?	

In Versuch Nr. 34 wurden die bestrahlten Männchen mit je 2 unbefruchteten Weibchen gepaart. In allen übrigen Serien wurde nur ein unbesamtes Weibchen mit einem bestrahlten Männchen weitergezüchtet.

Einzig in der Serie Nr. 32 wurden Abweichungen festgestellt. Unter den Nachkommen in der F₂ eines bestrahlten Männchens befanden sich Söhne mit verändertem Phänotypus. Die Imagines waren stark beim Gehen behindert. Eine morphologische Veränderung an den Extremitäten konnte jedoch nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Möglicherweise waren die Klauen an allen Tarsen stärker als normal gekrümmt. Eine Kopulation mit normalen, unbefruchteten Weibchen mißlang bei allen veränderten Tieren, wahrscheinlich wegen der verminderten Bewegungsmöglichkeit. Aus demselben Grund schlüpfte ein Teil der Imagines nicht aus den Wirtspuparien. Vielfach wurde das Chitin des Pupariumdeckels vom fertig entwickelten Adulttier aufgeissen, weiter konnte es sich nicht befreien. Diese Abweichung von der Normalform wurde wahrscheinlich durch die Bestrahlung verursacht. Da es in keinem Fall gelang, Nachkommen zu züchten, kann der Beweis für den Mutationscharakter dieser Abnormalität nicht erbracht werden. Weil dieselbe Mißbildung unter den Großsöhnen dieses einen bestrahlten Männchens jedoch gehäuft auftrat, kann man sie wahrscheinlich doch als sichtbare Mutation, verursacht durch Röntgenbehandlung, deuten.

Ein großer Ausfall an Puppen bei den Nachkommen von 2 Tieren aus Serie Nr. 39 könnte eventuell durch Letalfaktoren bewirkt worden sein. Ob als Ursache dafür die Bestrahlung in Frage kommt, konnte nicht sicher festgestellt werden.

Mit Ausnahme von 2 Versuchen besteht unter den Nachkommen der F₁ bei allen Serien ein starkes Überwiegen der Söhne. Das „normale“ Geschlechtsverhältnis (GV = 67—150), JENNI (1947 und 1951), scheint zugunsten der männlichen Nachkommen verschoben zu sein. Diese Störung kann durch eine Sterilisation der Männchen oder durch dominante Letalfaktoren bewirkt werden. *Pseudeucoila*-Männchen müßten in diesem Fall im Vergleich zu *Habrobracon* (P. W. WHITING 1937) schon bei relativ niedrigen Röntgendosen eine hohe Strahlenempfindlichkeit aufweisen. Im folgenden Abschnitt soll bei den Nachkommen bestrahlter Männchen das Geschlechtsverhältnis geprüft werden, um

auf diese Weise ein allfälliges Vorkommen von dominanten Letalfaktoren oder von Sterilitätsfaktoren festzustellen.

III. Bestrahlungsversuche zur Auslösung dominanter Letalfaktoren.

1. Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses bei den Nachkommen bestrahlter Männchen.

Bei Tieren mit Haplo-Diplomechanismus ist es möglich, durch bestimmte Verschiebungen im Geschlechtsverhältnis dominante Letalfaktoren von Sterilitätsfaktoren zu unterscheiden.

Aus parthenogenetischen Eiern entstehen bei *Pseudeucoila* Männchen, befruchtete Eier werden zu weiblichen Tieren.

Durch Röntgenstrahlen können in den Spermien adulter Männchen dominante Letalfaktoren erzeugt werden. Die Zahl der Töchter dieser bestrahlten Männchen wird dann im Vergleich zur Zahl der weiblichen Nachkommen normaler Eltern reduziert. Die haploiden Söhne dagegen erhalten nur mütterliches, unverändertes Erbmateriel. Ihre Anzahl und ihre Vitalität werden durch die Röntgenbestrahlung nicht beeinflusst. Dagegen wird die Gesamtzahl der Nachkommen bestrahlter Männchen, gepaart mit unbehandelten Weibchen, durch die Wirkung von dominanten Letalfaktoren herabgesetzt.

Verursacht die Röntgenbestrahlung Sterilität der betroffenen Männchen, so wird das Geschlechtsverhältnis der Nachkommen in anderer Weise verschoben. Je mehr inaktive Spermien durch die Bestrahlung entstehen, desto kleiner wird die Zahl der diploiden Nachkommen. Trotz eventuell erfolgter Paarung wird im Durchschnitt eine vermehrte Zahl von unbesamten Eiern abgelegt. Die Anzahl der parthenogenetischen Söhne nimmt im selben Maße zu, wie die Zahl der diploiden Töchter als Folge der Sterilität abnimmt. Die Gesamtzahl der Nachkommen bleibt aber unverändert.

Mit steigender Röntgendosis ist beim Auftreten von dominanten Letalfaktoren eine stetige Abnahme der Töchter zu erwarten, bei Sterilitätsfaktoren werden die diploiden Keime in zunehmendem Maße durch haploide ersetzt.

Bestrahlungsversuche bei männlichen Tieren von *Habrobracon juglandis* (HEIDENTHAL 1945), *Mormoniella vitripennis* (RAY 1949) und an einer *Melittobia*-Art (KERSCHNER 1946) ergaben dominante Letalfaktoren, deren Zahl mit steigender Röntgendosis erhöht werden konnte. Die Ergebnisse bei ähnlichen Versuchen mit *Pseudeucoila* fielen wegen Schwankungen im normalen Geschlechtsverhältnis nicht eindeutig aus. Die folgende Zusammenstellung gibt einen Vergleich der Verhältnisse von Männchen zu Weibchen bei den erwähnten Wespenarten. Das Geschlechtsverhältnis (GV) wird in der vorliegenden Arbeit als Anzahl der Männchen auf 100 Weibchen definiert.

- | | | |
|--|-----------|---|
| 1. <i>Habrobracon juglandis</i>
(HEIDENTHAL 1945) | GV = 43,5 | Im Gegensatz zu <i>Pseudeucoila</i> nimmt bei einem Weibchen mit zunehmendem Alter die Zahl der Söhne zu. |
| 2. <i>Melittobia spec.</i>
(KERSCHNER 1946) | GV = 2,4 | |
| 3. <i>Mormoniella vitripennis</i>
(RAY 1949) | GV = 20,0 | |

In allen 3 Fällen überwiegen im normalen GV die Weibchen.

4. *Pseudeucoila bochei* (verschiedene Angaben)

Nach BOCHE (zit. nach WELD 1944)	GV = 49,5	Die Weibchen überwiegen. Nach JENNI (1951) liegt dieses GV noch innerhalb der normalen Schwankung und ist nicht durch eine „Überinfektion“ beeinflusst.
Nach JENNI (1951)	a) GV = 172,4 b) GV = 63,9 bis 92,3 c) GV = 25,0 bis 400	Die Tiere stammen aus Zuchtflaschen, für jede Zucht wurden mehrere Weibchen verwendet. Tiere aus Einzelzuchten. Das GV wurde aus der Nachkommenzahl der gesamten Legetätigkeit errechnet. Tiere aus Einzelzuchten. Das GV ist errechnet aus der Nachkommenzahl eines Legetages. Die Schwankung des GV kann sehr hoch sein.
Eigene Kontrollen	a) GV = 96,4 b) GV = 146,9 c) GV = 310,9	Tiere aus Einzelzuchten in Schalen. Legetätigkeit 1 Tag. Tiere aus Einzelzuchten in Flaschen. Legetätigkeit bis zum Lebensende. Paarung eines Männchens mit je einem Weibchen. Tiere aus Einzelzuchten in Flaschen. Legetätigkeit bis zum Lebensende. Paarung eines Männchens mit verschiedenen Weibchen.

Ein Weibchen legt im Gegensatz zu *Habrobracon* bis zum Schluß seiner Legetätigkeit befruchtete Eier.

Das GV ist bei *Pseudeucoila* demnach zu einem großen Teil von den Zuchtbedingungen abhängig. Die Zahl der zur Verfügung stehenden Wirtslarven und die Zucht mit einem oder mit mehreren Wespenpaaren können eine Verschiebung des GV bewirken. In der Ablage von besamten und unbesamten Eiern ist zudem nach JENNI (1951) keinerlei Regelmäßigkeit zu erkennen. Bei gleichen Bedingungen kann an einem einzelnen Legetag der Anteil der Männchen unter den Nachkommen verschiedener gleichalteriger Weibchen um das 16fache schwanken (GV nach JENNI, Beispiel c). Bei den eigenen Kontrollen überwiegen in Beispiel c die Männchen auffallend. Sie stammen aus Zuchten, deren

Tabelle 6. *Geschlechtsverhältnis bei den Nachkommen bestrahlter Männchen, gepaart mit unbehandelten und unbefruchteten Weibchen.*

Dosis	Streuung in %	Zahl der Söhne	Zahl der Töchter	GV	Versuch
0		270	280	96,4	I Tiere aus Einzelzuchten in Schalen. Legetätigkeit 24 Std. Paarung eines Männchens mit je einem Weibchen
500	± 20	134	4	3350,0	
1000	± 20	94	12	783,3	
2000	± 20	170	29	586,7	
4000	± 20	99	38	260,5	
0		176	120	146,9	II Tiere aus Einzelzuchten in Flaschen. Eiablage während der ganzen Lebensdauer. Paarung eines Männchens mit je einem Weibchen
2000	± 50	454	43	1055,8	
0		370	119	310,9	III Tiere aus Einzelzuchten in Flaschen. Legetätigkeit während der ganzen Lebensdauer. Paarung eines Männchens mit verschiedenen Weibchen
2000	± 50	547	8	6837,6	
2500	± 20	691	61	1134,4	
2500	± 20	1383	32	4321,9	
3000	± 50	908	9	10088,9	
3600	± 50	395	27	1463,0	

GV = Anzahl der Männchen auf 100 Weibchen.

Männchen mit verschiedenen Weibchen an aufeinanderfolgenden Tagen gepaart worden waren. Die Zahl der unbesamten Weibchen konnte dadurch im Vergleich zu Beispiel b erhöht und die Möglichkeit für unbesamte Eier vergrößert sein.

Bei *Pseudeucoila* wurden 3 Bestrahlungsexperimente speziell für den Nachweis von dominanten Letalfaktoren und von Sterilitätsfaktoren ausgewertet. Die Tabelle 6 gibt eine Zusammenstellung der Nachkommenzahlen aus diesen Experimenten. Eine Dosisabhängigkeit ist nicht nachweisbar. Innerhalb der Zuchten besteht wahrscheinlich eine so große Schwankung im GV, daß verschiedene Zuchtanordnungen keine deutlichen Verschiebungen zwischen den 3 Experimenten bewirken können. In allen Fällen nimmt aber die Zahl der Töchter von bestrahlten Männchen im Vergleich zur Weibchenzahl der Kontrolltiere deutlich ab. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse einer statistischen Prüfung der Unterschiede im GV der Nachkommen aus den Versuchen I, II und III dargestellt.

Beim Vorhandensein von dominanten Letalfaktoren müßten die Unterschiede der Durchschnittszahlen bei den Töchtern gesichert sein, die Unterschiede bei den Söhnen ungesichert. Gleichzeitig müßte eine gesicherte Abnahme aller Nachkommen bestehen. Bei Sterilität wäre eine gesicherte Erhöhung der Durchschnittszahlen bei den Söhnen und ein Rückgang bei den Töchtern zu erwarten. Die durchschnittliche Anzahl aller Nachkommen dürfte nicht vom Durchschnitt der Kontrollen abweichen.

Wie schon erwähnt, ist keine Dosisabhängigkeit festzustellen. In Versuch I besteht eine gesicherte Zunahme der Durchschnittszahlen bei den Söhnen nach einer Bestrahlung von 500—1000—2000 r. Die durchschnittliche Zahl der Töchter weicht nur zufällig von der mittleren Zahl der weiblichen Nachkommen bei den Kontrolltieren ab. Ebenso sind die Unterschiede der Durchschnittszahlen ($\bar{x}$) aller Nachkommen nicht oder nur schwach gesichert, es besteht also keine Abnahme. Diese Ergebnisse deuten eher auf Sterilitätsfaktoren. Sehr viele der bestrahlten Männchen waren ohne weibliche Nachkommen. Die Schwankungen innerhalb der einzelnen Zuchten lassen deshalb eine durchschnittliche Abnahme unter den Töchtern nicht sicher erfassen. Dieser Versuch I weist im Vergleich zu den beiden weiteren eine niedrigere Zahl von Versuchstieren auf. Die Legetätigkeit dauerte in diesem Experiment nur 24 Std; die Nachkommenschaft war deshalb verhältnismäßig gering. Eine Wirkung von dominanten Letalfaktoren oder von Sterilitätsfaktoren ist nicht mit Sicherheit nachweisbar.

In Versuch II ist eine Zunahme der Söhne und eine Abnahme der Töchter im Vergleich zu den Durchschnittszahlen der Kontrollen schwach gesichert. Die durchschnittliche Anzahl aller Nachkommen weicht nicht von der entsprechenden Zahl der Kontrollen ab. Bei diesem Versuch können Sterilitätsfaktoren, verursacht durch die Bestrahlung, vorliegen.

Da in Versuch III jedes Männchen nacheinander mit verschiedenen Weibchen gepaart wurde, mußte die durchschnittliche Nachkommenzahl aus der Zahl der Männchen und aus der Zahl der verwendeten Weibchen berechnet werden. Damit entstanden 2 Werte für $\bar{x}$ (a und b in Tabelle 7). Sichere Schlüsse können nur aus den Versuchen gezogen werden, die für das $\bar{x}$ bezogen auf die Männchenzahl und das $\bar{x}$ der Weibchen dieselbe Sicherung gegenüber den entsprechenden Zahlen der Kontrolltiere aufweisen. Bei jedem Einzelversuch besteht eine

Tabelle 7. Statistische Prüfung der Unterschiede im Geschlechtsverhältnis der Nachkommen bestrahlter und unbestrahlter Männchen.

Dosis	Streu- ung	N	Unterschiede der $\bar{x}$ der Söhne			Unterschiede der $\bar{x}$ der Töchter			Unterschiede der $\bar{x}$ aller Nachkommen		
			$\bar{x}$	Sicherung gegen Kontrolle	P	$\bar{x}$	Sicherung gegen Kontrolle	P	$\bar{x}$	Sicherung gegen Kontrolle	P
r	%										
Versuch I.											
0		50	4,0			2,6			6,6		
500	± 20	12	11,2	gut	0,001	0,3	unges.	0,05	11,5	schwach	0,05 bis 0,01
1000	± 20	10	9,4	gut	0,01	1,4	unges.	0,05	10,8	unges.	0,05
2000	± 20	15	3,9	unges.	0,05	0	unges.	0,05	3,9	unges.	0,05
2000	± 20	16	8,2	gut	0,01	1,8	unges.	0,05	10,0	unges.	0,05
4000	± 20	17	5,8	unges.	0,05	2,2	unges.	0,05	8,1	unges.	0,05
Versuch II.											
0		23	7,7			5,3			13,0		
2000	± 50	28	16,2	schwach	0,05 bis 0,01	1,5	schwach	0,05 bis 0,01	17,7	unges.	0,05
Versuch III.											
0a		10	37,0			11,9			48,9		
b		25	14,8			4,8			19,6		
2000a	± 50	26	21,0	schwach	0,05 bis 0,01	0,3	gut	0,001	21,3	gut	0,001
b		36	15,5	unges.	0,05	0,2	gut	0,001	15,7	unges.	0,05
2500 ¹ a	± 50	30	23,0	unges.	0,05	2,0	gut	0,001	25,0	gut	0,00
b		69	10,0	unges.	0,05	0,9	gut	0,001	10,9	schwach	0,05 bis 0,01
2500 ² a	± 50	28	49,0	unges.	0,05	1,0	gut	0,001	50,0	unges.	0,05
b		64	21,6	unges.	0,05	0,5	gut	0,001	22,1	unges.	0,05
3000a	± 50	20	45,0	unges.	0,05	0,5	gut	0,001	45,5	unges.	0,05
b		39	23,3	gut	0,01	0,2	gut	0,001	23,5	unges.	0,05
3600a	± 50	27	14,0	gut	0,01	0,4	gut	0,001	14,4	gut	0,001
b		57	6,9	schwach	0,05 bis 0,01	0,2	gut	0,001	7,1	gut	0,001

N = Anzahl der bestrahlten Männchen oder der verwendeten Weibchen. $\bar{x}$ = durchschnittliche Nachkommenzahl je bestrahltes Tier. P = Grad der Wahrscheinlichkeit. In Experiment III wurden nacheinander mehrere Weibchen mit einem behandelten Männchen gepaart. $\bar{x}$ a) ist auf die Zahl der bestrahlten Männchen bezogen; b) $\bar{x}$ ist auf die Zahl der verwendeten Weibchen bezogen.

gesicherte Abnahme der Töchter gegenüber den Durchschnittszahlen der Töchter bei den Kontrollen. Scheinbar ist auch bei den Söhnen die Nachkommenzahl herabgesetzt. Ein gesicherter Unterschied ist aber nur im letzten Einzelversuch (3600 r) festzustellen. Bei einer 1. Bestrahlung mit einer Dosis von 2500 r scheinen dominante Letalfaktoren aufgetreten zu sein. Die durchschnittliche Zahl der Söhne ist im Vergleich zu den Kontrollen nicht vermindert, dagegen besteht ein gesicherter Rückgang in der durchschnittlichen Anzahl aller Nachkommen. Eine weitere Bestrahlung von Männchen mit derselben Dosis bewirkte wieder eine Verminderung der Töchter. Da jedoch in dieser Serie weder die durch-

schnittliche Zahl der Söhne noch die Gesamtzahl von den entsprechenden Kontrollzahlen abweichen, kann über dieses Ergebnis nichts ausgesagt werden. Die Verhältnisse bei den Bestrahlungen mit 2000 und 3000 r lassen ebenfalls keine sicheren Schlüsse zu. Im letzten Einzelversuch mit 3600 r könnte die Abweichung wieder durch dominante Letalfaktoren verursacht worden sein. Bei der Gesamtzahl der Nachkommen besteht ein gesicherter Unterschied, also eine Abnahme gegenüber den Kontrollen. Die Durchschnittszahlen der Töchter und der Söhne sind ebenfalls herabgesetzt. Ob in Versuch III Sterilitätsfaktoren vorhanden waren, kann nicht sicher nachgewiesen werden. Möglicherweise traten dominante Letalfaktoren und Sterilitätsfaktoren nebeneinander auf. Die Abnahme der Töchter würde dann nur teilweise durch eine Zunahme der Söhne kompensiert. Die hohen Schwankungen im normalen GV erschweren es, die Unterschiede statistisch gesichert zu erfassen.

Die ungleichen Ergebnisse aus den 3 Versuchsanordnungen lassen nur Vermutungen zu. Anscheinend bewirkt eine Bestrahlung von adulten Männchen eher Sterilität als die Entstehung von dominanten Letalfaktoren. Bei der Anwendung von sehr tiefen Röntgendosen wäre eventuell das Auftreten von Letalfaktoren allein denkbar. Im Gegensatz zu *Habrobracon* (HEIDENTHAL 1945) würde schon nach einer Behandlung mit wenig höheren Dosen nur selten eine Befruchtung der Eier stattfinden. Eine Beobachtung, die während der verschiedenen Versuche wiederholt gemacht werden konnte, gibt eine Bestätigung dieser Annahme. Die bestrahlten Männchen waren nach der Behandlung häufig nicht kopulationswillig. Die gleichalterigen Kontrollen paarten sich dagegen ohne weiteres. Äußerlich schienen die behandelten Tiere unverändert. Die Ursache einer Sterilität müßte dann nicht auf die Inaktivierung von Spermien, sondern auf das Fehlen der Kopulation zurückzuführen sein. Die Entstehung von dominanten Letalfaktoren nach einer Bestrahlung kann nach diesen Versuchen bei adulten Männchen nicht mit Sicherheit angenommen werden. Nach den Ergebnissen aus Versuchen mit männlichen Puppen (S. 257) könnte eine Bestrahlung mit Tieren, die sich kurz vor dem Schlüpfen befinden, eher zu einem positiven Resultat führen. Außerdem wären genau standardisierte Zuchtbedingungen anzuwenden, um das GV konstant zu halten. Für große Versuchsanordnungen, wie sie Bestrahlungsexperimente erfordern, bestehen bei *Pseudeucoila* jedoch bei einer solchen Standardisierung technische Schwierigkeiten.

2. Absterbedaten bei Eiern, Larven und Puppen in der F_1 bestrahlter Männchen zum Nachweis von dominanten Letalfaktoren.

Die Wirkung von dominanten Letalfaktoren kommt nicht nur in einem veränderten GV unter den Nachkommen von bestrahlten Männchen zum Ausdruck. Sie kann auch direkt durch eine erhöhte Sterberate bei den Embryonen und Larven in der F_1 nachgewiesen werden. Im vorangehenden Abschnitt konnte der indirekte Beweis für dominante Letalfaktoren nicht mit Sicherheit erbracht werden. In den folgenden Experimenten wurden der Zeitpunkt des Absterbens und die Zahl der abgestorbenen Eier und Larven bei bestrahlten Parasiten bestimmt und diese Zahl mit der entsprechenden der Kontrolltiere verglichen. Ein erhöhter Ausfall bei den Versuchstieren müßte durch dominante Letalfaktoren verursacht worden sein. Sterilität fällt hier außer Betracht.

Tabelle 8. Nachkommenzahlen und prozentuale Verteilung von lebenden, toten und abgekapselten Keimen in den Entwicklungsstadien der *F₁* von bestrahlten und unbestrahlten *Pseudeucoila*-Männchen.

Nr.	Dosis r	Zahl der bestrahl- ten 55	Infek- tionszeit Std	Nachkommen-Zahlen						Prozentuale Verteilung											
				ge- samt	Ei	L ₁	L ₂	L ₃	P	Ei		L ₁		L ₂		L ₃		P			
										v %	m %	k %	v %	m %	k %	v %	m %	v %	m %	v %	m %
I	0	410	13-24	1951	4	382	347	772	444	83,4	16,6	—	71,1	0,5	25,4	99,7	0,3	99,3	0,7	99,1	0,9
II	500	80	13	295	6	45	24	71	149	16,6	83,4	—	100	—	—	100	—	100	—	96,8	3,2
III	1000	100	13	463	9	54	16	312	72	55,6	44,4	—	98,1	1,9	—	100	—	100	1,6	100	—
IV	2000	200	24	1008	9	268	159	384	188	33,3	66,7	—	60,0	37,3	2,7	90,6	9,4	96,4	3,6	100	—
V	4000	100	24	841	13	283	211	92	242	23,1	72,9	—	49,1	4,6	46,3	98,1	1,9	90,2	9,8	93,8	6,2

L₁ = Larve 1. Stadium, L₂ = Larve 2. Stadium, L₃ = Larve 3. Stadium, P = Puppe. v % = Prozentsatz der lebenden Nachkommen
% = Prozentsatz der abgestorbenen Nachkommen, k % = Prozentsatz der eingekapselten Nachkommen.

L₁ = Larve I. Stadium, L₂ = Larve 2. Stadium, L₃ = Larve 3. Stadium, P = Puppe. v % = Prozentsatz der lebenden Nachkommen
m % = Prozentsatz der abgestorbenen Nachkommen, k % = Prozentsatz der eingekapselten Nachkommen.

a) Material und Methode.

Pseudeucoila-Männchen wurden mit verschiedenen hohen Röntgendosen bestrahlt und anschließend mit je einem unbesamten und unbehandelten Weibchen gepaart. Den nun begatteten Weibchen standen während einer bestimmten Zeit je 40 *Drosophila*-Larven vom 1. und 2. Stadium zur Eiablage zur Verfügung. In 4 Zeitabständen, die den 3 larvalen Entwicklungsstadien und der Verpuppung des Parasiten entsprechen, erfolgte die Sektion je eines Anteils der angesetzten Wirtslarven. Ein letzter Anteil wurde nicht seziiert, die Parasiten gelangten hier bis zur Imago. Die Verhältnisse bei diesen Adulttieren sind im vorangehenden Abschnitt (S. 261, Versuch I) diskutiert worden. Mit jedem Experiment wurden gleichzeitig eine Anzahl Kontrolltiere zur Infektion angesetzt. Diese Wirtslarven kamen in denselben Zeitabständen wie die von bestrahlten Wespen infizierten Fliegenlarven zur Sektion. Alle Wirte stammten aus einer Zucht von verschiedenen *Drosophila melanogaster*-Wildstämmen. Die Aufzucht wurde bei 23° C in einem belichteten Thermostaten durchgeführt.

b) Experimente.

Die Tabelle 8 gibt eine Zusammenstellung der Anzahl der Nachkommen von bestrahlten und unbestrahlten Männchen und vergleicht die prozentualen Anteile von lebenden, toten und eingekapselten Keimen bei verschiedenen hohen Röntgendosen.

Die Eiablage einer einzelnen Wespe ist innerhalb eines Tages nach JENNI (1951) und nach eigenen Beobachtungen auf eine bestimmte Stundenzahl beschränkt. Ungefähr 10 Std nach Beginn der Eiablage ist in den meisten Fällen die Tagesrate erreicht; die Legetätigkeit setzt nun aus. Die Legerate ist deshalb nach einer Infektionsdauer von 13 Std (Versuchsanordnung I, II und III) im Durchschnitt gleich hoch wie nach 24 Std (Anordnung von Versuch IV und V). Die Zahl der infizierenden Tiere überhaupt innerhalb einer ganzen Versuchsserie ist dagegen bei einer Infektionsdauer von 1 Tag höher als bei einer Infektionsdauer von nur 12—13 Std.

Diese Erscheinungen erlaubten es, ohne zu große Fehler aus den Experimenten I—V die Nachkommenzahlen zusammenzufassen und miteinander zu vergleichen.

c) Ergebnisse.

Übereinstimmend mit den Verhältnissen bei *Habrobracon* und *Drosophila* ist bei den Kontrolltieren von *Pseudeucoila* der normale Ausfall bei den Eiern am höchsten. Bei den Larven und Puppen sinkt die Zahl der abgestorbenen Keime unter 1%.

Die Anzahl der abgestorbenen Eier bzw. Embryonalstadien ist nach allen 4 Bestrahlungen im Vergleich zu den Kontrollen deutlich erhöht. Diese Abweichung ist bei Experiment II, III und IV (Tabelle 8) statistisch gut gesichert ($P < 0,001$). Im Versuch V wurden nur tote oder dann abgekapselte Eier nachgewiesen. Die Zahl der abgestorbenen Eier weicht nur zufällig vom normalen Ausfall bei den unbehandelten Tieren ab ($P > 0,05$). Geht vom Wirt eine Abwehrreaktion aus, so gelingt es dem Parasiten, wie auf S. 270 beschrieben wird, sich im Normalfall innerhalb der Kapsel bis zum 1. Larvenstadium zu entwickeln. Bei den eingekapselten Eiern von Versuch V wurde zum mindesten ein Teil davon als absterbende Keime vom Wirt unschädlich gemacht. Ein ähnliches Verhalten stellte ich bei *Drosophila*-Larven, die mit Eiern von bestrahlten Weibchen belegt worden waren, fest (S. 253). Es kann deshalb auch in Experiment V mit einer gesicherten Abweichung vom normalen Ausfall gerechnet werden.

Tabelle 9. Anzahl der abgestorbenen Keime unter den Nachkommen von bestrahlten Männchen.

Dosis r	Parasiten- zahl	Abgestorbene Keime	
		Zahl	„
0	1951	6	0,3
500	295	5	1,7
1000	463	10	2,1
2000	1008	41	3,9
4000	841	49	5,5

Bis zu einer Dosis von 1000 r weicht der prozentuale Anteil an abgestorbenen Nachkommen bei den 3 Larvenstadien nicht von den Kontrolltieren ab. Nach einer Bestrahlung mit 2000 und 4000 r ist die Zahl der toten Larven außer in einem Fall im Vergleich zu den Nachkommen von unbehandelten Männchen mit Sicherheit erhöht ($P > 0,01$ — $0,001$). Bei den Larven im 3. Stadium nimmt die Anzahl der abgestorbenen Tiere mit steigender Dosis zu. Bei den beiden anderen Larvenstadien kann die Absterbezahl in keine Beziehung zur Dosis gebracht werden.

Nach der Bestrahlung mit 500 und 4000 r wurde ein erhöhter Prozentsatz an toten Puppen festgestellt ($P < 0,02$ — $0,001$).

Die hier beschriebenen Experimente ergeben mit Sicherheit eine Zunahme der Sterblichkeit bei der F_1 von bestrahlten Männchen. Diese Erhöhung kann nur durch die Wirkung von dominanten Letalfaktoren verursacht worden sein. Die Tabelle 9 gibt eine Zusammenstellung aller abgestorbenen Nachkommen verglichen mit der Gesamtparasitenzahl und mit der Dosis. Daraus geht deutlich hervor, daß eine Dosisabhängigkeit besteht. Mit zunehmender Dosis wird der Ausfall an Eiern, Larven und Puppen bei der F_1 von bestrahlten Männchen größer. Die Zahl der dominanten Letalfaktoren nimmt zu. Im Gegensatz zum vorangehenden Abschnitt kann ihre Wirkung bei diesen Versuchen mit Sicherheit nachgewiesen werden. Aber selbst bei der Anwendung von 4000 r machen die abgestorbenen Tiere nur 5,5% aller gezählten Parasiten aus. Bei *Habrobracon* (HEIDENTHAL 1945) kann dagegen die Mortalität der diploiden Nachkommen nach einer Bestrahlung bis zu 80% steigen. Der niedere Prozentsatz bei unserem

Objekt steht in keinem Verhältnis zu der starken Verschiebung des GV zugunsten der Männchen, wie sie im entsprechenden Versuch (S. 260, Versuch I) nachgewiesen wurde. Der Rückgang der Weibchen beträgt dort zwischen 23—49%. Diese Differenz zwischen dem relativ niedrigen prozentualen Anteil an abgestorbenen Eiern und Larven und dem großen Ausfall an weiblichen Tieren bestätigt die frühere Annahme einer teilweisen Sterilisation der Männchen bei Anwendung von verhältnismäßig niedrigen Röntgendosen.

Die Sektion von zahlreichen *Drosophila*-Larven hatte häufig zur Beobachtung geführt, daß die infizierten Wirtslarven scheinbar eine verzögerte Entwicklung aufwiesen. Die folgenden Untersuchungen verglichen die Entwicklungszeiten bei nicht infizierten und infizierten Larven und Puppen von *Drosophila* miteinander.

IV. Vergleich der Entwicklungszeiten bei nicht infizierten und infizierten Larven und Puppen von *Drosophila*.

Nach BODENSTEIN (1950) entwickelt sich *Drosophila melanogaster* bei 25° C in folgenden Zeitabschnitten: 0 Std Eiablage, 24 Std Schlüpfen aus dem Ei, 49 Std 1. Häutung, 72 Std 2. Häutung, 120 Std Bildung des weißen Puparium, 121 Std Puparium gelb, 122 Std Puparium ausgefärbt, 124 Std Vorpuppenhäutung, 132 Std Verpuppung, Kopfausstülpung, 169 Std Augenpigment beginnt sich zu bilden, 189 Std Borstenpigment beginnt sich zu bilden, 216 Std Schlüpfen der Imago.

1. Experimente.

Eine Mischung aus verschiedenen *Drosophila melanogaster*-Wildstämmen diente zum Vergleich der Entwicklung infizierter und nichtinfizierter Larven und Puppen. Alle Versuche wurden bei 25° C durchgeführt.

Je 40 *Drosophila*-Larven wurden 2 Std nach der 1. Häutung (51 ± 2 Std alt) in 24 Schalen mit *Drosophila*-Standardfutter übertragen. Während 38 Std infizierten je 2 Wespenweibchen die Larven von 12 Schalen. 89 Std nach der Eiablage der Fliegen wurden die Wespen entfernt und die Larven aus 3 Kontrollschalen und aus 3 mit Wespen belegten Schalen seziert. 99 Std, 121 Std und 169 Std nach der Eiablage der Fliegen erfolgten 3 weitere Sektionen. Nach BODENSTEIN sollten sich die Tiere dann im 3. Larvenstadium befinden, bzw. das Puparium und bei der letzten Sektion das gelbe Augenpigment gebildet haben.

Tabelle 10. Entwicklungsstadien von nicht infizierten (N) und infizierten (I) *Drosophilae*.

Nr.	Sektions- alter Std	2. Stadium Larve		3. Stadium Larve		Puparium weiß		Puppen- häutung		Kopfaus- stülpung		Augenpigment			
												gelb		braun	
		N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N	I
1	89	1	—	98	101*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		1%	—	99%	100%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	99	—	—	104	60*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		—	—	100%	100%	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	121	—	—	18	46*	3	6**	90	22***	—	—	—	—	—	—
		—	—	16%	62%	3%	8%	81%	30%	—	—	—	—	—	—
4	170	—	—	—	—	—	—	—	62+	34	3++	66	—	2	—
		—	—	—	—	—	—	—	95%	33%	5%	65%	—	2%	—

Die absoluten Werte geben die Anzahl der bei den einzelnen Kontrollen und Sektionen vorgefundenen Tiere an. Die Prozentsätze sind auf die jeweiligen Gesamtzahlen bezogen. Das Sektionsalter wurde von der Eiablage der Fliegen bis zur Sektion gerechnet. Die eingekapselten Parasiten verteilen sich folgendermaßen auf die Wirte: ' = 18 Kapseln, ** = 5 Kapseln, * = 5 Kapseln, ** = 1 Kapsel, *** = 11 Kapseln, + = 2 Kapseln, ++ = 1 Kapsel.

Sektionen und Kontrollen ergaben die in Tabelle 10 dargestellten Verhältnisse. Bis zum Beginn der Metamorphose unterscheiden sich infizierte *Drosophila*-Larven in ihrer Entwicklungszeit nicht von nicht parasitierten Larven. 121 Std nach der Eiablage der Fliegen aber überwiegt bei den infizierten Tieren noch die Zahl der Individuen des 3. Larvenstadiums. Die nicht parasitierten Tiere befinden sich zum größeren Teil schon in der Vorpuppenhäutung. Bei der letzten Sektion (die Tiere sind 170 Std alt) sind die Unterschiede noch deutlicher geworden. 33% der normalen Puppen haben den Kopf ausgestülpt, 65% bildeten schon gelbes Augenpigment. Die infizierten Individuen dagegen gelangen nur zum Teil (5%) zur Verpuppung. Die übrigen 95% bildeten zwar das Puparium, sie häuteten sich aber nur noch zur Vorpuppe.

Die auf S. 266 erwähnten Daten von BODENSTEIN dienen nun als Norm zum Vergleich der Entwicklungszeiten von nicht infizierten und infizierten Tieren. Aus den Ergebnissen der Sektionen Nr. 3 und 4 wurden je ein Mittelwert der Stadien in Stunden (Tabelle 11, M) berechnet. Die Tabelle 11 gibt eine Übersicht der Entwicklungsstadien infizierter und nicht infizierter Tiere im selben Zeitpunkt. Die Unterschiede in den einzelnen Entwicklungszeiten von parasitierten *Drosophilae* und Kontrolltieren sind statistisch gut gesichert.

Tabelle 11. Vergleich der Entwicklungszeiten nicht infizierter und infizierter *Drosophilae*.

Sektion Nr.	Nicht infizierte Tiere		Infizierte Tiere ohne Kapseln		Infizierte Tiere mit Kapseln	
	M	Entwicklungsstadium	M	Entwicklungs- stadium	M	Entwicklungsstadium
1	88	3. Larvenstadium	89	3. Larvenstadium	89	3. Larvenstadium
2	99	3. Larvenstadium	99	3. Larvenstadium	99	3. Larvenstadium
3	120	weißes Puparium	106	3. Larvenstadium	117	3. Larvenstadium, kurz vor Puparium- bildung
4	167	Kopf ausgestülpt. Kurz vor Bildung des Augenpigments	125	kurz nach Puppenhäutung	136	Kopf ausgestülpt

Der der einzelnen Sektion entsprechende Entwicklungszustand ist als Mittelwert in Stunden (M) und als physiologisches Stadium angegeben.

2. Ergebnisse.

Normale und infizierte Tiere unterscheiden sich äußerlich nicht bis zum 3. Larvenstadium. Die Embryonalentwicklung der Wespe scheint das larvale Wachstum des Wirts nicht zu beeinflussen. Nach dem Schlüpfen des Parasiten aus dem Ei wird im befallenen Tier das Entwicklungstempo verlangsamt. Das Puparium wird zwar nach einem verlängerten Larvenstadium gebildet, die Puppenhäutung erfolgt jedoch mit einer Verspätung von etwa 40 Std. Dann bleibt die Entwicklung des infizierten Tieres vollständig stehen. Morphologisch sind noch wenig Veränderungen festzustellen. Die Gehirnganglien scheinen intakt. Schädigungen an den Imaginalscheiben sind zu diesem Zeitpunkt nicht mit Sicherheit nachzuweisen. Vielfach scheinen die Augenscheiben nicht die normale Größe zu besitzen. Die Zellen des Fettkörpers bleiben groß und isoliert. Kleinzelliges, imaginales Fettgewebe wurde bei infizierten Tieren nie beobachtet. Kurz nach der Puppenhäutung des Wirtes häutet sich der Parasit zum erstenmal. Nach dieser Häutung beginnt die sichtbare Zerstörung der *Drosophila*-Puppe.

Bei der 2. Larvenhäutung des Parasiten ist das Wirtspuparium fast vollständig leergefressen.

Gelingt es der infizierten Larve, den Parasiten einzukapseln, so ist ebenfalls eine verzögerte Entwicklung des Wirtes festzustellen. Die Metamorphose wird jedoch nicht unterbrochen; nach einer verlängerten Puppenzeit entsteht ein normal fertiles Adulttier.



Abb. 5a u. b. Zwei Metaphasenplatten aus den Ganglienzellen einer weiblichen Larve im 3. Stadium. Orcein-Quetschpräparat. Vergr. etwa 5700 $\times$.

Die verzögerte Verpuppung der infizierten Fliegenlarven könnte durch eine hormonale Beeinflussung oder durch den Stoffwechsel des Parasiten verursacht sein. Andererseits ist die 1. Larvenhäutung der Wespe möglicherweise von der Puppenhäutung des Wirtes abhängig. Temperaturen von mehr als 25 $^{\circ}$ C steigern nach JENNI (1951) das Entwicklungstempo von *Drosophila melanogaster* mehr als das von *Pseudeucoila bochei*. Die sich daraus ergebende Verschiebung in den Entwicklungsstadien von Wirt und Parasit verunmöglichen die Metamorphose der Wespe. Dieses Verhalten des Parasiten kann ebenfalls auf einer hormonalen Abhängigkeit vom Wirtstier beruhen.

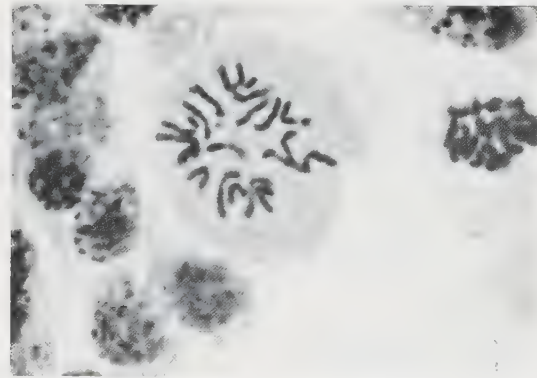


Abb. 6. Metaphasenplatte aus den Gehirnganglienzellen einer weiblichen Larve (entspricht der Zeichnung 5a). Vergr. etwa 6000 $\times$.

V. Die Chromosomenzahl bei *Pseudeucoila bochei*.

Die cytologischen Untersuchungen bei *Pseudeucoila* beschränken sich in der vorliegenden Arbeit auf die Chromosomenverhältnisse im Soma. Die beiden Hymenopteren allgemein verbreitete parthenogenetische Entstehung der Männchen ließ auch bei *Pseudeucoila* einen Haplo-Diplo-

mechanismus vermuten. Diese Annahme konnte cytologisch bestätigt werden. Die Männchen besitzen einen einfachen Chromosomensatz von 10 Chromosomen, der doppelte Satz bei den Weibchen weist 20 Chromosomen auf.

Parasitenlarven des 3. Stadiums wurden vorsichtig aus den *Drosophila*-Puparien befreit und die Gehirnganglien herauspräpariert. Orcein-Quetschpräparate ergaben sehr gute Ergebnisse. Die großen Ganglienzellen der Larven weisen in diesem Zeitpunkt zahlreiche Mitosen auf. Die Gonaden der weiblichen und männlichen Keime dieses Alters unterscheiden sich morphologisch schon deutlich. Bei der Präparation der Ganglien konnte deshalb in jedem Fall das Geschlecht der Larve bestimmt und mit dem cytologischen Befund verglichen werden.

Die Abb. 5a und b stellt 2 Metaphasenplatten aus den Ganglienzellen eines diploiden, also weiblichen Keimes dar. Der Chromosomensatz von Abb. 5a ist auch photographisch dargestellt (Abb. 6). Die Abb. 7a, b und c gibt 2 Meta-

phasenplatten und eine Anaphase aus den Gehirnzellen eines männlichen, haploiden Tieres wieder. Die Abb. 7a ist auch photographisch festgehalten (Abb. 8). Die Chromosomensätze enthalten in überwiegender Zahl metazentrische Chromosomen. Die Zusammenstellung eines Chromosomenkomplexes ergibt folgende Typen: 1 stäbchenförmiges, 5 J-förmige und 4 V-förmige Chromosomen. Ein V-förmiges Chromosom weist einen Trabanten auf (Abb. 9). Geschlechtschromosomen können nicht nachgewiesen werden. Polyploidie wurde in den Ganglienzellen nicht beobachtet.



Abb. 7.

Abb. 7a—c. Zwei Metaphasenplatten und eine Anaphase aus den Gehirnganglienzellen einer männlichen Larve. Orcein-Quetschpräparat. Vergr. etwa 5700 $\times$.

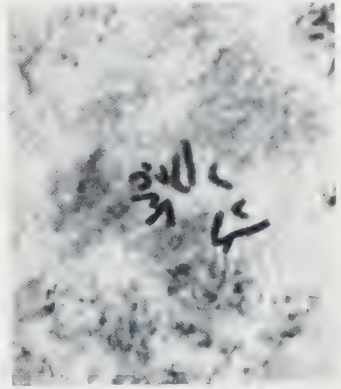


Abb. 8.

Abb. 8. Metaphasenplatte aus den Gehirnganglienzellen einer männlichen Larve (entspricht der Zeichnung 7a). Vergr. etwa 4000 $\times$.

Die Speicheldrüsen von *Pseudeucoila* besitzen sehr große Zellen mit riesigen Kernen. In den Präparaten waren keine Kernteilungsphasen zu finden. Die bei den Dipteren verbreitete Polytänie tritt bei *Pseudeucoila* erwartungsgemäß nicht auf. Gequetschte Kerne zeigten gleichmäßig verteilte Chromatinkörner, die keine Struktur erkennen ließen.

In unreifen Eistadien aus den Ovarien frisch geschlüpfter Weibchen fand ich häufig Kernteilungsstadien, deren Chromosomen sich wahrscheinlich in der späten Prophase der 1. Reifeteilung befanden. Die Chromosomenzahl konnte nicht immer mit Sicherheit ermittelt werden. Anscheinend bilden sich 10 Bivalente, die durch Chiasmata miteinander verbunden sind.

WHITING (1921) stellte bei *Habrobracon* fest, daß durch Inzucht biparentale Männchen mit stark herabgesetzter Vitalität entstehen können. TORVIK-GREB (1935) ergänzte diese Beobachtung durch den cytologischen Beweis der Diploidie bei diesen Männchen. Bei *Pseudeucoila* konnte das Bestehen von diploiden männlichen Tieren bis heute cytologisch nicht nachgewiesen werden. Genetische Anhaltspunkte dafür fehlen ganz, da keine Markierungsgene vorhanden sind.



Abb. 9. Haploider Chromosomen-Komplex. 1 stäbchenförmiges, 5 J-förmige und 4 V-förmige Chromosomen. 1 V-Chromosom mit Trabanten (t).

VI. Die Kapselbildung um *Pseudeucoila*-Keime als Abwehrreaktion bei Larven und Puppen von *Drosophila melanogaster*.

1. Einleitung.

Im Frühling 1951 gingen alle *Pseudeucoila*-Zuchten ein, die seit einigen Jahren im Laboratorium gehalten worden waren. Um neues Material zu beschaffen,

wurden in der Umgebung von Zürich *Drosophila*-Fangkessel mit Maisfutter und Fliegenlarven als Köder ausgesetzt. Auf diese Weise gelang es, in sehr kurzer Zeit zahlreiche *Pseudeucoila*-Weibchen zu erhalten. Männchen wurden nie gefunden. Im Laboratorium erwiesen sich die frisch eingefangenen Weibchen als gut fertil. Sie erzeugten zahlreiche Nachkommen beiderlei Geschlechts, die sich scheinbar wie gewohnt auf *Drosophila melanogaster* weiter ziehen ließen. Um die Lebensfähigkeit der Kulturen zu erhalten, wurde durch willkürliches Paaren von nicht verwandten Tieren eine Inzucht vermieden. Bei der Sektion von Fliegenlarven zeigte es sich, daß einzelne der infizierten Larven dunkel pigmentierte Kapseln mit einem meist unbeweglichen Parasitenkeim enthielten. Diese



Abb. 10. Infizierte *Drosophila*-Larve mit Pigmentkörnern in der Lymphe.

Abwehrreaktion war vorher weder von JENNI (1951) noch von mir bei *Pseudeucoila* beobachtet worden. Eine Einkapselung des Parasiten in *Drosophila*-Larven hatte JENNI schon früher nach einer Infektion durch die Braconide *Phaenocarpa tabida* festgestellt. Ähnliche Bildungen wies SCHNEIDER (1950) in Syrphidenlarven, die von Ichneumoniden parasitiert werden, nach.

Die Wildfänge von *Pseudeucoila* wurden wie gewohnt auf einem Gemisch aus dem Stamm Berlin-Inzucht und aus verschiedenen *Drosophila*-Wildstämmen (Berlin, Camargue, Eihoch, Sevelen, Zürich) in der auf S. 249 beschriebenen Weise gezüchtet. Die Kapselbildung erfolgte in den einzelnen Wirtslarven ganz unregelmäßig, manchmal vereinzelt, dann wieder trat sie gehäuft auf.

2. Beschreibung der Reaktion bei Parasit und Wirt.

Der eingekapselte Parasit befindet sich in einer dünnen, dunkelbraunen und zähen Hülle, die frei beweglich in der Körperflüssigkeit des Wirtes schwimmt. Die Bildung der Kapsel erfolgt entweder kurz bevor der Embryo von *Pseudeucoila* die Eihülle abstreift oder sofort nach dem Schlüpfen um die ganz junge Larve des 1. Stadiums. Ist die Einkapselung vollständig, so entwickelt sich der Keim darin noch bis gegen das Ende dieses Stadiums. Dann wird er unbeweglich und löst sich allmählich auf. Die Kapsel enthält dann nur noch ungeformtes Zellmaterial. Sie wird nicht resorbiert und kann häufig noch im Abdomen der Fliege wahrgenommen werden. Imagines mit eingekapselten Parasiten entwickeln sich normal und unterscheiden sich in keiner Weise von ihren Artgenossen aus den Wildstämmen. Gelingt die Umhüllung des Parasitenkeimes nicht vollständig, oder ist die Kapselwand nicht dick genug, so kann sich der Parasit wieder befreien. Vielfach wird in diesen Fällen in der *Drosophila*-Larve neben dem lebenden, normal entwickelten Wespenkeim eine leere Kapsel aufgefunden.

Kurz vor der Kapselbildung ist in der infizierten *Drosophila*-Larve Pigment sichtbar, das frei in der Körperflüssigkeit schwimmt. Die Abb. 10 zeigt eine infizierte *Drosophila*-Larve, deren Lymphe zahlreiche Pigmentschollen enthält. Bei der mikroskopischen Untersuchung findet man in der Lymphe von infizierten Tieren häufig durch Hämalan gut färbbare, isolierte Zellen mit deutlich sichtbaren Kernen. Dazwischen liegen zahlreiche spindelförmige Pigmentschollen

von brauner Farbe. Dieses Pigment tritt in den meisten Fällen zuerst im hinteren Teil des Larvenkörpers auf, unabhängig von der Lage des Parasiten im Wirt. Mit der Zeit verteilen sich die Pigmentkörner in der ganzen *Drosophila*-Larve. Sie lagern sich rasch um die Parasitenlarve an und hüllen sie meistens vollständig

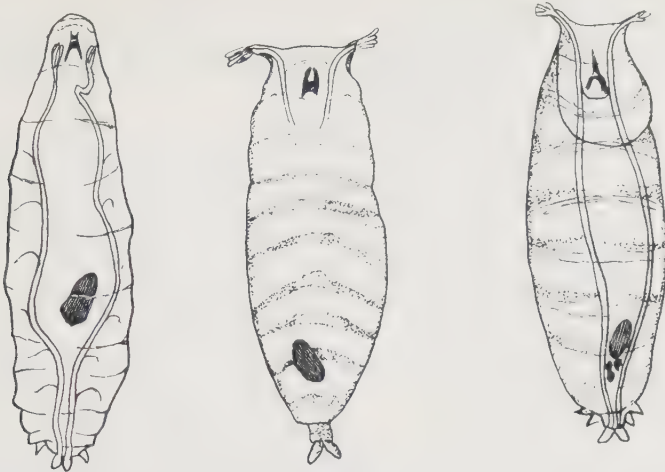


Abb. 11. Eingekapselte Parasiten in einer Larve und in Puppen von *Drosophila*.

ein. Die Abb. 11 stellt eine *Drosophila*-Larve und 2 Puppen dar, die eingekapselte Parasiten enthalten. Die dunklen Kapseln sind durch das Puparium hindurch sichtbar. Die Bildungsart des Pigmentes deutet auf eine *Abwehrreaktion des*

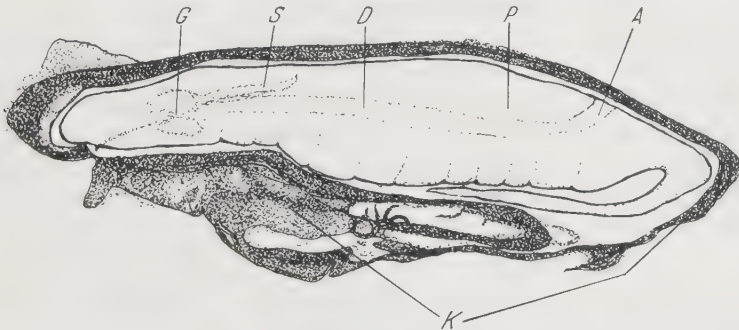


Abb. 12. Schematischer Schnitt durch eine Kapsel mit dem darin eingeschlossenen Parasiten. *K* Kapselwand, *P* Parasit im frühen 1. Larvenstadium, *G* Gehirnganglien, *S* Speicheldrüse, *D* Darm, *A* After. Vergr. etwa 30 ×.

Wirtes gegen den Parasiten und nicht auf eine Ausscheidung durch den infizierenden *Pseudeucoila*-Keim. Eine ähnliche Erscheinung besteht in Tumorstämmen von *Drosophila* (STARK 1919, RUSSEL 1940). Nach der 2. Häutung bilden sich in den Larven bestimmter *Drosophila*-Stämme gutartige Tumoren, die allmählich von einer dunklen Pigmentschicht umgeben werden. Nach HARTUNG (1949) handelt es sich dabei um Melanin. Die Tumorzellen gehen mit der Zeit zugrunde, die Melaninschollen werden jedoch nicht resorbiert. Sie sind wie die Kapseln parasitierter *Drosophilae* auch noch im adulten Tier sichtbar. Der Zeitpunkt der Melaninbildung in diesen Tumorstämmen entspricht dem Zeitpunkt der

Kapselbildung in parasitierten Fliegenlarven: im frühen 3. Larvenstadium sind die ersten Melaninkörner sichtbar, die sich dann um die Haufen der Tumorzellen anlagern. OFTEDAL (1952) stellte fest, daß bei bestimmten Stämmen die Zellen der Hämolymphe an der Tumorbildung beteiligt sind. Er nimmt an, daß es sich dabei um eine Melanisierung dieser Blutzellen handelt.

Die Abb. 12 gibt einen schematischen Schnitt durch einen vollständig eingekapselten Parasiten wieder. Das Pigment ist an einzelnen Stellen häufig in verschiedenen Schichten angelagert.

Die Anzahl der abgelegten Parasiteneier scheint keinen Einfluß auf die Stärke der Kapselbildung zu haben. Besitzt die Wirtslarve die Fähigkeit zur Abwehr-

Tabelle 12. Verteilung von gekapselten und ungekapselten Parasiten bei Überinfektion.

Parasitenzahl pro Wirt	Kapselzahl	Ungekapselte Parasiten
3	—	3
2	2	—
2	2	—
2	—	2
3	3	—
2	—	2
2	1	1
4	4	—
2	2	—
3	—	3

reaktion, so werden auch bei starker Überinfektion (2—3 Parasiten im gleichen Wirt) in den meisten Fällen alle Keime eingekapselt. Die Tabelle 12 gibt eine Zusammenstellung für überinfizierte *Drosophila*-Larven mit gekapselten und ungekapselten Parasiten. Nur in einer von 10 überinfizierten Larven befand sich neben einem lebenden Parasiten eine ganz ausgebildete Kapsel mit einem *Pseudeucoila*-Keim. In allen übrigen Tieren waren entweder alle Parasiten ohne Pigmentanlagerung oder dann wurden nur Kapseln festgestellt. SCHNEIDER (1950)

machte bei überinfizierten *Syrphiden*-Larven eine von diesem Verhalten abweichende Feststellung. Mit steigender Eizahl je Wirt wird dort die Kapselbildung immer lückenhafter. Die Überinfektion ist aber bei den Schwebefliegenlarven viel massiver als bei *Drosophila*. Das total im Wirt abgelagerte Kapselmateriale verteilt sich deshalb auf eine größere Zahl von Keimen. Zudem tritt bei den Syrphiden eine unvollständige Kapselbildung auch bei der Infektion mit nur 1 Ei je Wirt häufiger auf als bei von *Pseudeucoila bochei* infizierten *Drosophila*-Larven.

Die eingekapselten Wespenlarven wurden in männlichen und in weiblichen Larven und Puppen von *Drosophila* nachgewiesen. Die Fähigkeit zur Abwehr ist demnach in beiden Geschlechtern vorhanden.

Tiefe Temperaturen scheinen die Kapselbildung nicht zu beeinflussen. Infektionsversuche, durchgeführt bei 23° C und bei 12° C erzielten im Durchschnitt bei den einzelnen Larven die gleiche Anzahl von Kapseln.

Der Zeitpunkt der Kapselbildung in der *Drosophila*-Larve wurde durch den in Tabelle 13 dargestellten Versuch bestimmt. In 18 Schalen mit je 40 Fliegenlarven des frühen 2. Stadiums aus den Stämmen Zürich und Camargue wurden während 44 Std je 3 Wespenpaare zur Infektion angesetzt. In bestimmten Zeitabständen sezierte ich die Larven aus je 2 Schalen und stellte die Anzahl der eingekapselten und nicht gekapselten Tiere fest. Wie auf S. 270 erwähnt wurde, bildet sich die Kapsel um den Embryo von *Pseudeucoila* kurz bevor er die Eihülle verläßt oder dann um die frisch geschlüpfte Wespenlarve. Infiziert wird

Tabelle 13. Zeitpunkt der Kapselbildung um den Parasiten in der Wirtslarve.

Zeit	Zahl der infizierten <i>Drosophilae</i>				Parasitenzahl					
	L ₂	L ₃		P	Ei		1. Larvenstadium			
		a	b		o. Pig.	m. Pig.	o. Pig.	m. Pig.	Kapsel dünn	Kapsel vollst.
7 ³⁰	42	20	—	—	21 29,2%	1 1,4%	36 50%	12 16,7%	—	2 2,7%
9 ⁰⁰	4	39	9	—	25 44,6%	3 5,9%	25 44,6%	2 3,4%	—	1 1,5%
10 ⁰⁰	3	43	22	—	9 18,7%	—	24 50%	5 10,4%	3 6,3%	7 14,6%
11 ⁰⁰	4	42	—	—	9 15,8%	—	43 75,3%	3 5,3%	1 1,8%	1 1,8%
14 ⁰⁰	—	—	35	—	3 8,3%	—	17 47,2%	1 2,8%	—	15 41,7%
15 ³⁰	—	—	60	—	6 8,3%	—	31 43,0%	3 4,2%	3 4,2%	29 40,3%
17 ⁰⁰	—	—	59	1	4 11,4%	—	18 51,5%	—	—	13 37,1%
17 ³⁰	1	—	34	—	13 28,3%	1 2,2%	21 45,7%	2 4,3%	1 2,2%	8 17,3%
18 ⁰⁰	—	—	21	—	1 3,8%	—	6 23,2%	3 11,5%	2 7,7%	14 53,8%

L₂ = Larve des 2. Stadiums, L_{3a} = Larve des frühen 3. Stadiums, L_{3b} = Larve des späten 3. Stadiums, P = Puppe, o. Pig. = infizierte *Drosophila*-Larve ohne Pigmentkörner in der Lymphe, m. Pig. = *Drosophila*-Larve mit Pigmentkörnern in der Lymphe. Kapsel vollst. = Kapsel vollständig ausgebildet.

der Wirt im 1. oder im 2. Larvenstadium. Die Embryonalzeit des Parasiten dauert 40—44 Std. Während dieser Zeit häutet sich der Wirt aber schon zum zweitenmal. Aus Tabelle 13 wird deutlich, daß eine direkte Proportionalität zwischen der Zunahme des prozentualen Anteils an Kapseln und dem Alter der *Drosophilae* besteht. Die Zahlen der um 17³⁰ durchgeführten Sektion scheinen von diesem Ergebnis abzuweichen. Da dort sich aber noch 28,3% der Parasiten in den Eihüllen befinden, ist die Kapselbildung zum Teil noch gar nicht erfolgt. Wahrscheinlich handelt es sich hier um eine verspätete Infektion durch die Wespen. Die Abwehrreaktion des Wirtes manifestiert sich demnach im späten 3. Larvenstadium, kurz vor der Bildung des Puparium.

3. Problemstellung.

Die Bildung einer Kapsel ist anscheinend durch den Wirt und durch den Parasiten bedingt. Geht der Anstoß zur Einkapselung vom Wirt aus oder ist der Einfluß des Parasiten ausschlaggebend?

a) Besteht in der Abwehrreaktion eine Spezifität bei den einzelnen *Drosophila*-Wildstämmen?

b) Handelt es sich um eine individuelle Eigenschaft des Parasiten? Spielen Alter und Herkunft der Wespe eine Rolle?

4. Experimente.

Die folgenden Versuche sollen darüber entscheiden, ob als Ursache der Kapselbildung eine individuelle Eigenschaft des Parasiten oder eine Spezifität bei den einzelnen Fliegenstämmen anzunehmen ist.

a) *Versuchsanordnung.* Als Wirte wurden nacheinander verschiedene reine *Drosophila*-Wildstämme verwendet, nämlich Sevelen, Berlin, Zürich, Eihoch, Camargue und der Stamm Berlin-Inzucht. Ein einzelnes Experiment erstreckte sich jeweils über 6 Tage. Als Parasiten brauchte ich 5 frisch geschlüpfte Wespenpaare. Jedes dieser 5 Paare kam für den 1. Versuchstag zu je 40 Fliegenlarven des 2. Stadiums aus einem für alle Parasiten identischen, bestimmten Fliegenstamm. Am 2. Versuchstag übertrug ich die 5 Wespenpaare zu je 40 Fliegenlarven eines andern Wildstammes. Dasselbe wiederholte ich an den weiteren 4 Versuchstagen bei den übrigen Wildstämmen. Zum Schluß hatten den 5 Wespenpaaren an 6 aufeinanderfolgenden Tagen je 40 Fliegenlarven aus den 6 erwähnten *Drosophila*-Stämmen zur Eiablage zur Verfügung gestanden. Die Sektion dieser Larven und Puppen erfolgte etwa 72 Std nach dem Ansetzen der Parasiten.

Im ganzen wurden nacheinander 5 parallele Versuchsserien von je 6 Tagen durchgeführt. Die Reihenfolge der zur Infektion kommenden Fliegenstämme wechselte ich in jedem dieser 5 Serien. Im 3. Versuch infizierten zum Beispiel alle Wespenpaare die Fliegenlarven des Zürich-Stammes am 4. Tag. In einer anderen Serie wurden die Larven des Camargue-Stammes am 4. Tag der Infektion ausgesetzt. Die Larven des Zürich-Stammes wurden hier z. B. schon am 1. Tag, also von frisch geschlüpfen Wespen, mit Eiern belegt. Auf diese Weise konnte ich feststellen, ob dem Alter der infizierenden Wespen bei der Kapselbildung eine Rolle zukommt.

Nach JENNI (1951) wirkt bei *Pseudeucoila* die Kopulation als Stimulus zur Eiablage. Aus diesem Grunde wurden für die Versuche Wespenpaare und nicht unbesamte Weibchen verwendet.

b) *Ergebnisse.* In der Tabelle 14 sind die Resultate aus einem der 5 Versuche als Schema zusammengestellt. Es scheint eindeutig zu sein, daß keine Spezifität des einzelnen Parasiten vorliegt. Bei keinem Wespenpaar findet man bei den verschiedenen *Drosophila*-Stämmen einen gleichbleibenden Prozentsatz der Kapselbildung; die Schwankungen sind beim gleichen Paar von Stamm zu Stamm außerordentlich groß. Das gleiche Bild zeigte sich bei den übrigen Versuchen.

Die Tabelle 15 gibt eine Zusammenfassung aller 5 Experimentalserien. Es wurde kein Stamm gefunden, der nicht die Fähigkeit besitzt, Kapseln um *Pseudeucoila*-Larven zu bilden. Die Neigung, die Parasiten einzukapseln, ist jedoch bei den einzelnen *Drosophila*-Stämmen ganz verschieden stark. Am schwächsten reagiert der Stamm Sevelen; Camargue-Larven zeigen die Reaktion am häufigsten. Vergleicht man die Zahlen der ungekapselten und gekapselten Parasiten aus den einzelnen Stämmen statistisch mit der χ^2 -Methode, so scheinen sich 3 Gruppen zu ergeben. Sevelen unterscheidet sich mit Sicherheit von allen übrigen Stämmen ($P < 0,001$). Die starke Reaktion bei Camargue ist ebenfalls gegen alle Stämme gut gesichert ($P < 0,001$). Eihoch ist noch gesichert gegenüber Berlin-Inzucht, sonst unterscheiden sich die Kapselanteile der 4 Stämme nur zufällig voneinander. Nach der Tabelle 15 scheint ein Zusammenhang zwischen der Parasitenzahl und der Stärke der Reaktion zu bestehen. Die Anzahl der infizierten Tiere überhaupt und der Prozentsatz der Kapselbildung in den einzelnen Stämmen sind jedoch unabhängig voneinander. Das Alter der infizierenden Wespen ist als möglicher Einfluß auf eine stärkere oder schwächere Pigmentanlagerung um den Parasiten ebenfalls auszuschließen. Camargue bildet am häufigsten Kapseln, unabhängig von der Reihenfolge der Stämme in den einzelnen Versuchen. Die Larven von Sevelen zeigen die schwächste Reaktion, ob die verwendeten Wespen nun früh oder spät zur Eiablage in diesem Stamm gelangen.

Die hier diskutierten Ergebnisse erbringen den Nachweis einer stammspezifisch unterschiedlichen Reaktion bei verschiedenen Wildstämmen von *Drosophila*. Diese Wirkung könnte auf einer Immunitätsreaktion gegenüber dem eindringenden

Tabelle 14. Prozentualer Anteil von eingekapselten Parasiten bei infizierten Tieren aus verschiedenen *Drosophila*-Stämmen.

Stamm	Gesamt- zahl	1.Wespen- paar	2.Wespen- paar	3.Wespen- paar	4.Wespen- paar	5.Wespen- paar
<i>Berlin</i>						
Parasiten.	121	19	30	25	14	33
Kapseln	22	8	3	5	3	3
	18,2%	42,1%	10,0%	20,0%	21,4%	9,1%
Wirte mit Pigment . .	40	4	12	4	6	14
	33,1%	21,2%	40,0%	16,0%	42,9%	42,5%
<i>Camargue</i>						
Parasiten.	177	39	46	35	20	37
Kapseln	104	20	24	22	15	23
	58,9%	51,3%	52,2%	62,9%	72,0%	62,2%
Wirte mit Pigment . .	33	7	5	7	3	11
	17,2%	17,9%	10,9%	20,0%	15,0%	29,7%
<i>Sevelen</i>						
Parasiten.	202	42	35	36	44	45
Kapseln	19	2	5	4	3	5
	9,4%	4,8%	14,3%	11,1%	6,4%	14,3%
Wirte mit Pigment . .	29	3	4	3	8	11
	14,3%	7,1%	11,4%	8,3%	18,2%	24,4%
<i>Zürich</i>						
Parasiten.	97	19	.	8	37	33
Kapseln	43	2	.	2	16	23
	44,3%	10,5%	.	25,0%	45,9%	69,7%
Wirte mit Pigment . .	20	8	.	2	7	3
	20,6%	42,1%	.	25,0%	18,9%	9,1%
<i>Eihoch</i>						
Parasiten.	100	9	26	24	21	20
Kapseln	39	7	10	7	3	12
	39,0%	77,7%	38,5%	29,2%	14,3%	60,0%
Wirte mit Pigment . .	14	.	7	5	2	.
	14,0%	.	24,6%	20,8%	9,5%	.
<i>Berlin-Inzucht</i>						
Parasiten.	118	27	21	26	24	20
Kapseln	10	4	3	2	0	1
	8,5%	14,8%	14,3%	7,7%	—	5,0%
Wirte mit Pigment . .	5	1	0	1	1	2
	4,2%	3,7%	.	3,8%	4,2%	10,0%

Der Prozentsatz der Gesamtzahlen wurde nicht als Durchschnitt aus den 5 Einzelergebnissen berechnet, sondern als Anteil aus der Gesamtzahl der Parasiten.

Tabelle 15. Prozentualer Anteil von eingekapselten Parasiten bei infizierten *Drosophilae* aus verschiedenen reinen Wildstämmen.

Stamm	Parasiten- zahl	Kapsel- zahl	Anteil der Kapseln in %					
			gesamt	1.Ver- such	2.Ver- such	3.Ver- such	4.Ver- such	5.Ver- such
Camargue.	666	359	53,9	76,4	56,1	58,9	57,9	23,4
Eihoch	559	197	35,2	16,2	41,6	39,0	27,5	48,9
Zürich	582	189	32,5	32,0	22,1	44,3	38,5	36,7
Berlin	463	135	29,2	41,7	23,2	18,2	31,3	41,4
Berlin-Inzucht	463	105	22,7	22,5	48,0	7,6	40,2	7,6
Sevelen.	481	50	10,4	4,3	25,3	9,4	10,3	3,1

Parasiten beruhen, die sich in den einzelnen Stämmen verschieden stark manifestiert.

Es stellte sich die Frage nach der Ursache dieser Stammspezifität. Falls sie sich als genetisch festgelegt erwies, mußten bei den 3 Gruppen von Wildstämmen

verschiedene erblich bedingte Reaktionssysteme angenommen werden. Zudem konnte damit die Nichtspezifität der einzelnen Wespen bewiesen werden.

5. Selektion und Kreuzung.

Durch *Selektion* mußte versucht werden, einen Fliegenstamm mit totaler Abwehr und einen Stamm ohne die Fähigkeit zur Kapselbildung zu erhalten. Eine anschließende Kreuzung zwischen diesen beiden Selektionsstämmen konnte eventuell Aufschluß über das verschiedene Verhalten der einzelnen Stämme geben.

Zur Selektion wurde der Stamm Camargue, mit einem starken Abwehrvermögen und der Stamm Sevelen, mit schwacher Reaktion, benutzt.

a) *Versuchsanordnung.* 10 Fliegenpaare, die ich willkürlich aus der *Sevelenzucht* auswählte, wurden einzeln in 10 kleinen Schalen mit *Drosophila*-Futter angesetzt. Nach 2—3 Tagen hatten sich die von diesen Fliegen abgelegten Eier zu Larven des 2. Stadiums entwickelt. Je 40 dieser Larven übertrug ich auf frisches Futter und ließ sie von je 2 besamten *Pseudeucoila*-Weibchen während 2 Tagen infizieren. Da auch mehrere Parasiten im gleichen Wirt keine Veränderung in der Reaktion hervorrufen, spielte hier die Überinfektion keine Rolle. Die Wahrscheinlichkeit einer Infektion wurde dagegen mit 2 Parasiten je Schale erhöht. Zwei Tage nach dem Ansetzen der Wespen wurden die Parasiten entfernt und die Larven und Puppen von *Drosophila* aus allen 10 Schalen seziert. Damit ergab sich bei den Nachkommen der Einzelfliegenpaare ein prozentualer Anteil an Kapseln und an Wirtstieren mit Pigmentbildung. Diejenigen 3 Fliegenpaare, deren Nachkommen die schwächste Reaktion gezeigt hatten, wurden weiter gezüchtet. Von ihren Söhnen und Töchtern (den Geschwistern der seziierten Larven und Puppen) wurden je nach der Zahl der geschlüpften Tiere 3—9 unbefruchtete Weibchen mit je einem Männchen aus derselben Zucht gepaart und dann zur Eiablage angesetzt. Wieder kamen je 40 der Nachkommen zur Selektion, die 3 Fliegenpaare mit der schwächsten Reaktion gelangten wiederum zur Weiterzucht. Dasselbe Verfahren wurde beim Stamm *Camargue* angewandt, nur wurden hier diejenigen Fliegenpaare, deren Nachkommen die stärkste Abwehr zeigten, weiter gezüchtet.

b) *Ergebnisse.* Die Tabelle 16 gibt die Resultate aus den beiden Selektionsreihen wieder. Es gelang nicht, einen Stamm mit totaler Abwehr bzw. ohne jede Fähigkeit zur Kapselbildung herauszuzüchten. Bei *Camargue* scheint nach

Tabelle 16. *Selektion bei den Stämmen Camargue und Sevelen für einen Stamm mit starker bzw. schwacher Reaktion gegenüber der Parasitierung.*

Datum	Generation	Zahl der Parasiten	Kapseln %	Parasiten Larven mit Pigment %	Total der Tiere mit Reaktion %
Camargue					
8. 12. 51	G ₁	162	58,0	3,7	61,7
?	G ₂	35	77,1	11,4	88,5
26. 1. 52	G ₃	248	60,9	5,2	66,1
14. 2. 52	G ₄	388	64,4	16,8	81,2
7. 3. 52	G ₅	536	49,1	28,9	78,0
1. 4. 52	G ₆	238	52,1	23,5	75,6
Sevelen					
15. 11. 51	G ₁	102	13,7	4,9	18,6
22. 12. 51	G ₂	73	16,4	4,2	20,6
10. 1. 52	G ₃	64	23,4	10,9	34,3
28. 1. 52	G ₄	194	13,9	15,9	29,8
14. 2. 52	G ₅	410	3,2	20,0	23,2
8. 3. 52	G ₆	561	0,2	19,9	20,1
1. 4. 52	G ₇	161	0,6	14,9	15,5

G₁—G₇ = Selektionsgenerationen.

6 Generationen kaum eine stärkere Neigung zur Ausbildung von vollständigen Kapseln zu bestehen. Dagegen hat die Reaktionsfähigkeit im gesamten zugenommen. In immer mehr Fällen wird bei einer Infektion von den Larven und Puppen Pigment gebildet. Im Gegensatz zu Sevelen ist dieses Pigment zusammengeklumpt und in groben Schollen verteilt. Häufig gelingt es dem Parasiten, sich aus der ganz ausgebildeten Kapsel wieder zu befreien. *Drosophila*-Puppen, die einen lebenden Wespenkeim und eine leere, geöffnete Kapsel enthielten, wurden zum Prozentsatz der infizierten, pigmentierten Tiere gerechnet. Wahrscheinlich besteht bei Camargue die Möglichkeit einer erfolgreichen Selektion. Da die Stärke der Reaktion aber anscheinend nur langsam zunimmt, müßte sich diese Selektion über zahlreiche Generationen erstrecken. Beim Wildstamm Sevelen nimmt die Neigung zur Ausbildung von vollständigen Kapseln allmählich ab und sinkt nach 6 Generationen unter 1%. Gleichzeitig ist aber eine Zunahme der Pigmentbildung festzustellen. Dieses Pigment ist im Unterschied zu den Larven und Puppen von Camargue sehr feinkörnig und scheint den Parasiten nicht zu beeinflussen. Durch die Selektion konnte bis heute die Fähigkeit zur Reaktion gegenüber dem Parasiten bei Sevelen kaum vermindert werden. Art und Stärke der Abwehr haben sich jedoch verändert. Ihre Wirkung scheint herabgesetzt zu sein; an Stelle von Kapseln entsteht nur noch Pigment.

c) Kreuzungen. Tiere aus dem Camargue-Stamm G_6 wurden mit Sevelenfliegen aus G_7 reziprok gekreuzt. Von ihren Nachkommen wurden je 40 als Larven des 2. Stadiums der Infektion von besamten *Pseudeucoila*-Weibchen ausgesetzt und die Zahl der reagierenden Tiere geprüft. Die Geschwister der kontrollierten Larven und Puppen kamen als F_1 -Imagines zur inter se-Kreuzung. Ein Teil der Fliegen von Camargue G_6 und Sevelen G_7 wurden nach der auf S. 276 erwähnten Art zur Selektion weiter gezogen. Die Tabelle 17 stellt die Resultate der 1. Kreuzung dar. Als Vergleich sind die Resultate aus den 2 Selektionsreihen der entsprechenden inter se gekreuzten Generationen von Camargue und Sevelen aufgetragen. Die Tabelle 18 gibt Aufschluß über die Verhältnisse bei der F_2 der Kreuzung Camargue $\times$ Sevelen. Die Selektion wurde ebenfalls weiter betrieben. Um den Streubereich der beiden herausgezüchteten Stämme zu kontrollieren, wurden nicht, wie gewohnt, diejenigen Fliegenpaare, die die stärkste bzw. die schwächste Reaktion zeigten, weitergezogen. Beim Camargue-Stamm wurden diesmal diejenigen Fliegen, deren Nachkommen den kleinsten Anteil an Kapseln

Tabelle 17. Kreuzung des Stammes Camargue (C) mit dem Stamm Sevelen (Se).

Kreuzung	Zahl der Fliegenpaare	F_1				Selektion				
		Zahl der Parasiten	Kapseln %	Wirt mit Pigment %	Total %	Generation	Zahl der Parasiten	Kapseln %	Wirt mit Pigment %	Total %
$G_6 \times G_7$	15	289	53,6	8,0	61,6	G_7	211	48,3	28,0	76,3
$C \times Se$	8	106	38,5	15,1	53,6	C	120	0,8	12,5	13,3
$G_7 \times G_6$						G_8				
$Se \times C$						Se				

Als Vergleich zu den Befunden in der F_1 (vorn) steht hinten die prozentuale Verteilung an Kapseln aus den reinen Selektionsstämmen der entsprechenden Generation. Total = Total der reagierenden Tiere der F_1 in %. G = Selektionsgeneration, C = Camargue, Se = Sevelen.

Tabelle 18. *Prozentualer Anteil an Kapseln und Pigment in der F₂ der Kreuzung Camargue (C) × Sevelen (Se).*

F ₁ -Tiere inter se aus	Zahl der Fliegen- paare	F ₂				Gegenselektion				
		Zahl der Parasiten	Kapseln %	Wirt mit Pigment %	Total %	Gene- ration	Zahl der Parasiten	Kapsel %	Wirt mit Pigment %	Total %
G ₈ × G ₇ C × Se	26	511	30,7	7,2	37,9	G ₈ C	45	35,6	26,7	62,3
G ₇ × G ₆ Se × C	11	194	45,4	9,8	55,2	G ₉ Se	64	12,5	6,3	18,8

Als Vergleich die prozentuale Verteilung an Kapseln aus den Selektionsstämmen. Erklärung dazu im Text. Total = Total der reagierenden Tiere der F₂ in %. G = Selektionsgeneration, C = Camargue, Se = Sevelen.

und Pigment aufwiesen, zur Weiterzucht gewählt. Sevelen führte ich diesmal mit dem Stamm entsprechend am stärksten reagierenden Individuen weiter.

d) *Resultate.* Die Zahl der gebildeten Kapseln in F₁-Tieren aus der Kreuzung C × Se entspricht dem Prozentsatz der eingekapselten Parasiten im Stamme Camargue. Bei der reziproken Kreuzung (Se × C) besteht eine scheinbar schwächere Reaktion. Der zahlenmäßige Unterschied zwischen den 2 Kreuzungen ist jedoch statistisch nicht gesichert, er kann nur zufällig sein. In der F₂ ist die Zahl der Pigment und Kapseln bildenden Tiere aus der Kreuzung C × Se im Vergleich zur F₁ fast um die Hälfte gesenkt. Diese Zahlen würden für genetisch festgelegte Faktoren mit dominanter Wirkung sprechen. Die Tiere aus der Kreuzung Se × C zeigen in der F₂ dagegen eine erhöhte Reaktionsfähigkeit gegenüber dem Parasiten, verglichen mit den entsprechenden Resultaten der F₁. Annahmen für eine dominante oder rezessive Wirkung genetischer Faktoren können deshalb nur mit Vorsicht gemacht werden.

Die zur selben Zeit wie die Kreuzung durchgeführte Selektionszüchtung (Tabelle 17) weicht in ihren Ergebnissen nicht von den Zahlen aus den früheren Generationen ab. Bei Camargue weisen etwa 75% der Tiere eine Reaktion gegen *Pseudeucoila* auf, bei Sevelen nur etwa 13%. Kapseln werden im 2. Fall nur von 0,8% der Tiere ausgebildet. Die bei der nächsten Fliegengeneration durchgeführte Gegenselektion zeigt ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich zu den früheren Resultaten (Tabelle 16 u. 18, S. 276, 278). Der Camarguestamm besitzt hier wohl eine etwas herabgesetzte Reaktion, doch ist der Unterschied nicht von Bedeutung.

e) *Zusammenfassung.* Bei Wildstämmen von *Drosophila melanogaster* kann nach einer Infektion mit *Pseudeucoila*-Eiern die Bildung von Pigment und eine Einkapselung des Parasiten im Wirt erfolgen. Diese Eigenschaft ist nicht bei allen Stämmen gleich stark ausgebildet, es besteht ein sicherer Unterschied im Abwehrvermögen. Die Ergebnisse der Kreuzung von den 2 entgegengesetzt reagierenden Stämmen Camargue und Sevelen nach vorangegangener Selektion lassen die Annahme einer genetischen Grundlage dieser Fähigkeit zu. Diese Reaktionsfähigkeit beruht möglicherweise auf einem polyfaktoriellen System mit teilweise dominanter Wirkung und eventuell unvollständiger Penetranz. Ganz zuverlässige Schlüsse können erst nach der Weiterführung der Selektion über viele Generationen und einer erneuten Kreuzung gezogen werden.

Die Fähigkeit zur Pigment- und Kapselbildung nach der Parasitierung kann eventuell durch eine Immunitätsreaktion bei den Wildfliegen erklärt werden. JENNI (1951) beobachtete die gleiche Erscheinung nach der Infektion mit einem anderen *Drosophila*-Parasiten, mit der Schlupfwespe *Phänocarpa tabida*. Antigen-Antikörperreaktionen wurden bei *Drosophila* durch FOX (1949) nachgewiesen. Die Bildung der Immunitätsstoffe zur Abwehr des Parasiten müßte dann bei den einzelnen Stämmen je nach ihrer Herkunft verschieden sein; sie könnte eventuell auch ganz fehlen. Neben dieser spezifischen Eigenschaft der Fliegen muß der Anstoß zur Kapselbildung auch von einer spezifischen Wirkung des Parasiten ausgehen. Bei den Untersuchungen von JENNI (1951) trat, wie früher erwähnt, nie eine Reaktion gegen *Pseudeucoila* auf. Diese Erscheinung konnte erst nach der Verwendung von frisch eingefangenen Wespen beobachtet werden.

Versuche mit weiteren *Drosophila*-Stämmen aus geographisch weit entfernten Gebieten und mit neuen Wildfängen von *Pseudeucoila* könnten zur Lösung dieser Probleme beitragen.

Schlußzusammenfassung.

1. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Bestrahlungsversuchen bei der entomophagen Cynipide *Pseudeucoila bochei* WELD, einem Parasiten von *Drosophila melanogaster*.

2. Als Versuchsmaterial zur Erzeugung von sichtbaren Mutationen oder von dominanten Letalfaktoren dienen adulte Männchen und Weibchen sowie Larven und Puppen in verschiedenen Stadien.

3. Die Technik der Bestrahlung wird beschrieben.

4. Die Bestrahlung von besamten Weibchen bleibt in bezug auf *sichtbare Mutationen* ohne Erfolg.

5. Eine große Zahl von Weibchen weist nach der Röntgenbehandlung keine Nachkommen auf. Anzahl und Lebensfähigkeit der abgelegten Eier von bestrahlten Tieren werden mit den Eiern von unbestrahlten Weibchen verglichen. Die Untersuchungen zeigen, daß eine Röntgenbehandlung bei adulten unbesamten Weibchen die Sterilisation eines großen Teils der Eier hervorruft, die bei 3000 r 100% erreichen kann.

6. Die *Ovarien* frisch geschlüpfter Weibchen enthalten zum großen Teil voll ausgewachsene Eier, deren Kerne sich wahrscheinlich in später Prophase oder in früher Metaphase der ersten Reifeteilung befinden. Etwa 2 Tage nach dem Schlüpfen der Imago haben alle Keimzellen diesen Reifezustand erreicht. Eizellen, deren Kerne sich in Prophase oder Metaphase befinden, scheinen besonders empfindlich auf Röntgenstrahlen zu sein. Bei *Pseudeucoila*-Weibchen fehlt nach einer Bestrahlung die Möglichkeit eines Nachschubes von entwicklungsfähigen Eiern. Die Verwendung von adulten Weibchen scheint daher zur Erzeugung von sichtbaren Mutationen durch Röntgenstrahlen nicht aussichtsreich.

7. Auch nach der Bestrahlung von *Pseudeucoila*-Larven und *Pseudeucoila*-Puppen können keine sichtbaren Mutationen festgestellt werden. Behandelte Larven verpuppen sich häufig nicht oder sterben kurz vor dem Schlüpfen. Durch Abschirmen mit Blei gelingt es, einige Adulttiere zu erhalten. Bestrahlte Puppen sind ebenfalls häufig im Schlüpfen behindert.

8. Bestrahlte Männchen werden mit unbesamten Weibchen gepaart und ihre Nachkommen in der F₁ und F₂ auf sichtbare Mutationen geprüft. In den meisten

Fällen weichen die kontrollierten Tiere nicht von der Wildform ab. In einer Zuchtflasche treten Männchen mit verkrüppelten Extremitäten auf. Da eine Weiterzucht nicht gelingt, kann der Nachweis für den Mutationscharakter der Veränderungen nicht erbracht werden.

9. Bei Tieren mit Haplo-Diplomechanismus können bei den Männchen durch bestimmte Verschiebungen im *Geschlechtsverhältnis* der Nachkommen Sterilitätsfaktoren von dominanten Letalfaktoren unterschieden werden. Das normale Geschlechtsverhältnis bei *Pseudeucoila* wird näher untersucht; es stellen sich dabei starke, von den Zuchtbedingungen abhängige Schwankungen heraus. Bestrahlte Männchen weisen einen bedeutenden Ausfall an Töchtern auf. Eine Dosisabhängigkeit ist nicht festzustellen. Die Ergebnisse sind nicht eindeutig. Wahrscheinlich treten neben dominanten Letalfaktoren schon nach einer Behandlung mit relativ niedrigen Röntgendosen auch Sterilitätsfaktoren auf.

10. Es wird versucht, die Wirkung von *dominanten Letalfaktoren* direkt durch einen erhöhten Ausfall an Embryonen und Larven in der F_1 bestrahlter Männchen nachzuweisen. Die entsprechenden Experimente ergeben mit Sicherheit eine Zunahme der Sterblichkeit bei der F_1 behandelter Männchen, die nur durch dominante Letalfaktoren bewirkt werden kann. Da die starke Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses zugunsten der Söhne nicht dem relativ kleinen Ausfall an diploiden Keimen entspricht, ist neben den dominanten Letalfaktoren gleichzeitig eine teilweise Sterilisation der Männchen anzunehmen.

11. Die Entwicklungszeiten bei infizierten und nichtinfizierten Larven und Puppen von *Drosophila* werden miteinander verglichen. Es ergibt sich eine gesicherte Entwicklungshemmung bei den infizierten Tieren.

12. An Orcein-Quetschpräparaten aus Gehirnganglien von *Pseudeucoila*-Larven des 3. Stadiums lassen sich die *Chromosomenverhältnisse* feststellen. Das Männchen enthält im Soma $n = 10$ Chromosomen, das Weibchen $2n = 20$. Geschlechtschromosomen und Polyploidie können nicht nachgewiesen werden. Ein Chromosomenkomplex wird zusammengestellt.

13. Nach der Infektion durch Wespen aus frischen Wildfängen trat in den befallenen Fliegenlarven eine *Reaktion gegen den Parasiten* auf. Die *Pseudeucoila*-Keime werden durch Anlagerung von dunklem Pigment in eine Kapsel gehüllt und dadurch zum großen Teil unschädlich gemacht. Die *Kapselbildung* erfolgt in den einzelnen Wirtslarven ganz unregelmäßig, manchmal vereinzelt, dann tritt sie wieder gehäuft auf. Die Anzahl der abgelegten Eier je Wirt scheint keinen Einfluß auf die Stärke der Kapselbildung zu haben. Die eingekapselten Wespenlarven werden in männlichen und in weiblichen Larven und Puppen von *Drosophila* gebildet. Der Zeitpunkt der Entstehung der Kapsel in der Wirtslarve wird bestimmt.

14. Nach Infektionsversuchen an 6 verschiedenen reinen Wildstämmen von *Drosophila melanogaster* läßt sich in der Fähigkeit zur Kapselbildung eine *Stammspezifität* feststellen. Der Stamm Camargue zeigt die stärkste Reaktion. Die Fliegenlarven bilden hier im Vergleich zu den anderen Stämmen nach einer Infektion am häufigsten Kapseln. Sevelen reagiert dagegen am schwächsten, die Fähigkeit zur Kapselbildung ist hier am wenigsten ausgeprägt. Vier andere Stämme weisen eine mittlere Reaktionsstärke auf. Durch Selektion wird versucht, einen Stamm mit totaler Abwehr und einen Stamm ohne Reaktionsfähigkeit

zu erhalten. Camargue und Sevelen werden zu dieser *Selektion* benutzt. Es gelang bis jetzt nicht, einen Stamm mit vollständiger Abwehr-bzw. ohne jede Reaktion herauszuzüchten. Nach 6 Generationen hat bei Camargue die Fähigkeit zur Reaktion noch zugenommen. Auch bei Sevelen ist nach 7 Generationen eine Veränderung in der Abwehreigenschaft festzustellen. Hier ist vor allem ihre Wirkung herabgesetzt. An Stelle von Kapseln entsteht in der Wirtslarve nur noch Pigment.

15. Tiere aus den beiden selektionierten Stämmen werden reziprok ausgekreuzt. Die Ergebnisse der *Kreuzungen* lassen die Annahme einer *genetischen Grundlage* dieser Reaktionsfähigkeit gegenüber dem Parasiten zu. Es scheint sich dabei um ein polyfaktorielles System mit teilweise dominanter Wirkung zu handeln.

Literatur.

BODENSTEIN, D.: The postembryonic development of *Drosophila*. Biology of *Drosophila*, edited by M. Demerec, S. 275. 1950. — FOX, A. S.: Immunogenetic studies of *Drosophila melanogaster*. Genetics **34**, 647 (1949). — FRÜHAUF, E.: Legeapparat und Eiablage bei Gallwespen. Z. wiss. Zool. **121** (1923). — HARTUNG, E. W., and M. G. TILLINGHAST: The nature of the pigmented sheath in *Drosophila* tumors. Science (Lancaster, Pa.) **109**, 565 (1949). — HEIDENTHAL, G.: The occurrence of X-ray induced dominant lethal mutations in *Habrobracon*. Genetics **30**, 197 (1945). — JENNI, W.: Beziehungen zwischen Geschlechtsverhältnis und Parasitierungsgrad einer in *Drosophila*-Larven schmarotzenden Gallwespe (*Eucoila* sp.). Rev. suisse Zool. **54** (1947). — Beitrag zur Morphologie und Biologie der Cynipide *Pseudeucoila bochei* WELD, eines Larvenparasiten von *Drosophila melanogaster*. Acta zool. (Stockh.) **32** (1951). — KERSCHNER, J.: Dominant lethals induced by X-ray in sperm of the wasp *Melittobia* sp. Anat. Rec. **96** (1946). — LEA, D. E.: Actions of radiations on living cells, S. 192. Cambridge university Press 1947. — MARTIN, A.: An introduction to the genetics of *Habrobracon juglandis* ASHMEAD, S. 192. New York: The Hobson Book Press 1947. — METZ, C. W., and R. D. BOCHE: Observations on the mechanism of induced chromosome rearrangements in *Sciara*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **25**, 280 (1939). — OFTEDAL, P.: Histology and Histogenesis of *Drosophila* Tumors. Science (Lancaster, Pa.) **116** (1952). — RAY, D. T.: Dominant lethals induced by X-ray in sperm of the chalcidoid wasp *Mormoniella vitripennis*. Biol. Bull. **95**, 257 (1948). — RUSSEL, E. S.: A comparison of benign and „malignant“ tumors in *Drosophila melanogaster*. J. of Exper. Zool. **84**, 363 (1940). — SCHNEIDER, F.: Die Abwehrreaktion des Insektenblutes und ihre Beeinflussung durch die Parasiten. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **95** (1950). — SMITH-STOCKING, H.: Genetic studies on selective segregation of chromosomes in *Sciara coprophila* LINTNER. Genetics **21**, 421 (1936). — STARK, M. B.: A benign tumor that is hereditary in *Drosophila*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **5**, 573 (1919). — TORVIK-GREB, M.: The chromosomes of *Habrobracon*. Biol. Bull. **68** (1935). — WELD, L. H.: Descriptions of new cynipidae including two new genera. Proc. Ent. Soc. Washington **46** (1944). — WHITING, A. R.: Variegated eye color in the parasitic wasp *Habrobracon*. Coll. Net **8** (1933). — Eye colors in the parasitic wasp *Habrobracon* and their behavior in multiple recessives and in mosaics. J. Genet. **29**, 99 (1934). — Sensitivity to X-ray of stage in oogenesis of *Habrobracon*. Genetics **24**, 89 (1939). — X-ray sensitivity of first meiotic prophase and metaphase in *Habrobracon* eggs. Genetics **27**, 174 (1942). — WHITING, P. W.: Studies on the parasitic wasp *Habrobracon brevicornis*, I. Genetics on an orange-eyed mutation and the production of mosaic males from fertilized eggs. Biol. Bull. **41**, 42 (1921). — The production of mutations by X-ray in *Habrobracon*. Science (Lancaster, Pa.) **68** (1928). — Dominant lethal genetic effects caused by neutrons. Science (Lancaster, Pa.) **84**, 68 (1936). — *Habrobracon* as a means for testing the effectiveness of physical agents in causing mutations. Proc. Pennsylv. Acad. Sci. **11**, 50 (1937).

Dr. EVA SCHLEGEL-OPRECHT, Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut
der Universität Zürich.

Curriculum vitae.

Ich, EVA OPRECHT, wurde in meinem Bürgerort Zürich geboren. Hier besuchte ich die Primar- und Sekundarschule, anschließend die Frauenbildungsschule der Töchterschule Zürich und vom Frühjahr 1942 bis zum Herbst 1943 die Laborantinnenschule Engeried in Bern. Im Herbst 1944 trat ich in das Maturitätsinstitut von Prof. TSCHULOK in Zürich ein. Im Frühling 1946 bestand ich die eidgenössische Maturitätsprüfung in Bern und immatrikulierte mich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich. Im Februar 1949 begann ich mit der vorliegenden Arbeit. Im Frühjahr 1953 verheiratete ich mich mit Herrn cand. med. HANS SCHLEGEL, Bürger von Zürich und Sevelen.

Während meiner Studien besuchte ich die Vorlesungen der Herren Prof. E. HADORN, H. STEINER, H. WANNER, H. U. DÄNIKER, A. FREY-WYSSLING, E. HESS, H. MOOSER, P. KARRER, F. LEUTHART, A. LINDER und O. SCHLAGINHAUFEN, sowie der Herren P. D. Dr. H. GLOOR und E. KUHN.

